UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1940-1941. — N° 11

ESSAIS EXPÉRIMENTAUX

D'UN

EXTRAIT HÉPATO-PYLORO-GASTRIQUE

Travail du Laboratoire du Service de Clinique Chirurgicale
et Gynécologique du Professeur GUYOT

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le vendredi 7 février 1941

PAR

M^me^ Paulette-Marie-Précilla GLAUNÈS, née CHARLES

Née à BORDEAUX (Gironde), le 8 juin 1911

Examinateurs de la Thèse

MM. GUYOT, professeur ..... *Président.*
JEANNENEY, professeur .....
DE GRAILLY, agrégé ..... *Juges.*
DERVILLÉE, agrégé .....

BORDEAUX
IMPRIMERIE LIBRAIRIE DELMAS
6, Place Saint-Christoly

1941

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1940-1941. — N° 11

ESSAIS EXPÉRIMENTAUX

D'UN

EXTRAIT HÉPATO-PYLORO-GASTRIQUE

Travail du Laboratoire du Service de Clinique Chirurgicale
et Gynécologique du Professeur GUYOT

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le vendredi 7 février 1941

PAR

Mme Paulette-Marie-Précilla GLAUNÈS, née CHARLES

Née à BORDEAUX (Gironde), le 8 juin 1911

Examinateurs de la Thèse

MM. GUYOT, professeur ..... *Président.*
JEANNENEY, professeur .....
DE GRAILLY, agrégé ..... *Juges.*
DERVILLÉE, agrégé .....

BORDEAUX
IMPRIMERIE LIBRAIRIE DELMAS
6, Place Saint-Christoly

1941

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYEN : M. MAURIAC.
ASSESSEUR : M. LABAT.
DOYEN HONORAIRE : M. C. SIGALAS.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. MOURE, BARTHE, DENIGÈS, BEILLE, CHAVANNAZ, C. SIGALAS, SABRAZÈS, BÉGOUIN, DUPOUY, A. MANDOUL, PETGES.

PROFESSEURS :

	MM.		MM.
Clinique médicale	MAURIAC.	Zoologie et parasitologie	N.
id.	DUPÉRIÉ.	Médecine expérimentale	AUBERTIN.
Clinique chirurgicale et gynécologique	GUYOT.	Clinique ophtalmologique	TEULIÈRES
Clinique chirurgicale	PAPIN.	Clinique chirurg. infantile et orthopédie	ROCHER.
Pathologie et thérapeutique générales	CARLES.	Clinique méd. des maladies des enfants	CRUCHET.
Clinique d'accouchements	ANDÉRODIAS.	Chimie biologique et médicale	MACHEBŒUF.
Anatomie pathol. et microscopie clinique	DAMADE.	Physique médicale et pharmaceutique	WANGERMEZ
Anatomie	VILLEMIN.	Médec. coloniale et clin. des mal. exotiques	BONNIN.
Anatomie générale et histologie	G. DUBREUIL.	Clinique des malad. cutanées et syphilitiques	N.
Hygiène	LEURET.	Clinique des maladies des voies urinaires	DUVERGEY.
Médecine légale et déontologie	LANDE.	Clinique des malad. nerveuses et mentales	ABADIE.
Electroradiologie et clin. d'électricité médic.	RÉCHOU.	Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN.
Chimie	CHELLE.	Toxicologie et hygiène appliquée	LABAT.
Botanique et matière médicale	GOLSE.	Hydrologie thérapeutique et climatologie	CREYX.
Pharmacie	VITTE.	Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ.
Physiologie	FABRE.		

MM. LACOSTE (Histologie). PERY (Obstétrique). PERRENS (Maladies mentales). R. SIGALAS (Parasitologie et sciences naturelles). JEANNENEY, CHARRIER (Chirurgie générale).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Anatomie	DUFOUR.	Chirurgie générale	MAGENDIE.
Physiologie	FRANCK.	id.	POUYANNE.
Médecine générale	PIÉCHAUD.	Obstétrique	RIVIÈRE.
id.	DELMAS-MARSALET.	id.	MAHON.
id.	DE GRAILLY.	Ophtalmologie	BEAUVIEUX.
id.	FONTAN.	Oto-rhino-laryngologie	DESPONS.
id.	BROUSTET.	Dermatologie et syphiligraphie	JOULIA.
id.	DERVILLÉE.	Physique médicale	AURIAC.
id.	SARIC.	Chimie générale pharmaceut. et toxicologie	CASTAGNOU.
id.	DUBARRY.	Histoire naturelle pharmaceutique	GIRARD.
Chirurgie générale	LOUBAT.	Pharmacie	MESNARD.
id.	MASSÉ.	id.	GRANGER.
id.	DARGET.	Histoire natur. médicale et parasitologie	R. MANDOUL.

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.		MM.
Médecine opératoire	JEANNENEY.	Ophtalmologie	CABANNES (en congé).
Accouchements	RIVIÈRE.	Physique médicale et pharmaceut que	AURIAC.
Pathologie médicale	DELMAS-MARSALET.	Anatomie	J. BEAUVIEUX.
Puériculture	FAUGÈRE.	Chimie minérale	CASTAGNOU.
Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS.	Botanique	GIRARD.
Médecine légale	DERVILLEE.	Pharmacie galénique	MESNARD.
Urologie	DARGET.	Bactériologie	MOUREAU.
Législation pharmaceutique	POPLAWSKI.	Physiologie	PETITEAU.

Orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes. N.

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MON MARI

A MES ENFANTS

A MES PARENTS

A MES AMIS

A MES MAITRES DE LA FACULTE DE MEDECINE
ET DES HOPITAUX

A MON JURY DE THESE

A MON PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur J. GUYOT

Professeur de Clinique chirurgicale et gynécologique,
Chirurgien de l'Hôpital Saint-André,
Membre correspondant de l'Académie de Chirurgie.
Vice-Président de la Société française de Gynécologie,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Croix de guerre,
Officier de l'Instruction publique,

Mon cher Maître,

Vous aviez déjà droit à toute notre reconnaissance. En nous faisant l'honneur de présider notre thèse, vous nous avez montré, une fois de plus, votre bienveillante sollicitude. Soyez assuré de notre respectueux attachement.

AVANT-PROPOS

Nous avions l'intention de rapporter dans notre thèse l'étude à la fois expérimentale et clinique d'un extrait hépato-pyloro-gastrique. Les difficultés actuelles nous obligent à publier uniquement le côté expérimental de cette étude; la partie clinique comprenant de nombreuses observations recueillies dans les différents services hospitaliers en France, et notamment dans le service de notre Maître le Professeur Guyot, sera publiée dès que nous en aurons la possibilité.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536526_0015

ESSAIS EXPÉRIMENTAUX

D'UN

EXTRAIT HÉPATO-PYLORO-GASTRIQUE

INTRODUCTION

Il n'est plus besoin de discuter aujourd'hui la valeur des méthodes de Whipple ou de Castle. L'hépatothérapie et la gastrothérapie sont les deux piliers de la thérapeutique antianémique. Noël Fiessinger écrivait en 1930 : « Il est rare d'observer dans l'histoire de la thérapeutique un succès aussi foudroyant que celui de la méthode de Whipple pour le traitement des anémies. » La méthode de Castle, plus jeune de dix ans, s'affirme, d'après de nombreux et récents travaux, aussi efficace.

A priori, il était séduisant d'obtenir une médication qui réalise la synthèse de ces deux méthodes. Nous verrons dans un premier chapitre comment fut réalisé l'extrait hépato-pyloro-gastrique que nous avons étudié.

Qu'il s'agisse d'un extrait hépatique, d'un extrait gastrique, d'un extrait hépato-pyloro-gastrique, le « principe antipernicieux » en est aussi mal connu. Alors que la chimie des vitamines, des hormones, a fait ces temps derniers de tels progrès qu'il est facile d'en obtenir la plupart d'une façon synthétique, le facteur antianémique n'a jamais pu être

isolé, et toutes les hypothèses sont encore permises quant à sa nature. Il est logique de penser que cela provient surtout du fait que l'on n'a pas pu trouver un test fidèle qui en eût facilité l'isolement. Nous verrons dans un deuxième chapitre les différentes méthodes proposées dans ce but.

Le médecin pourrait croire que ces recherches sont purement d'ordre scientifique; malheureusement, elles ont une portée pratique considérable : lui assurer que le médicament qu'on lui offre est toujours identique à lui-même. Lorsqu'on essaie de comparer expérimentalement des extraits antianémiques, on est frappé par la différence des résultats. C'est pourquoi, s'il existe bien de rares cas d'hépato-résistance, nous pensons que la plupart des échecs viennent de l'irrégularité du produit. Il est donc de première importance d'obliger l'industrie pharmaceutique à contrôler et essayer de doser ses préparations. Depuis trois ans, dans le Laboratoire de biologie clinique du Docteur J.-P. Glaunès, nous nous sommes attachés à cette question. Nous rapporterons au chapitre III les recherches poursuivies et particulièrement celles ayant trait à l'extrait hépato-pyloro-gastrique.

CHAPITRE PREMIER

L'EXTRAIT HEPATO-PYLORO-GASTRIQUE

I. — *L'hépatothérapie.*

L'action favorable du foie dans le traitement des anémies avait été soupçonnée avant que les travaux de Whipple en fassent la base de la méthode qui porte son nom.

C'est ainsi que les indigènes de Ceylan, pour lutter contre l'anémie de la sprue, employaient une soupe au foie.

En France, J. Mouras, dès 1901, en donnant à ses malades du foie de porc cru afin de lutter contre l'ascite de la cirrhose alcoolique, notait la reprise d'une coloration de la face. En 1904, le Professeur Perrin écrivait : « Parmi les substances données au sang par la cellule hépatique fonctionnant normalement, il en est qui exercent une action stimulante sur la moelle osseuse : l'insuffisance hépatique amenant la diminution, la moelle osseuse met en liberté moins de globules rouges. Si la fonction hépatique se rétablit, l'hématopoïèse se raffermit; si la fonction hépatique s'exagère, l'hématopoïèse s'exagère. »

En Italie, Castellino; en Allemagne, Engel et Czerny; en Amérique, Feulon, Gibson et Howard avaient préconisé le foie contre les anémies.

C'est en 1920 que le physiologiste Whipple, avec la collaboration de Robscheit-Robbins, avait démontré l'action considérable du foie cru dans l'anémie expérimentale du chien.

En saignant toutes les semaines des chiens soumis à un régime approprié, il obtenait une anémie relativement stable, l'hémoglobine restant au 1/3 de sa valeur normale. En les ajoutant à la ration des animaux en expérience, il pouvait étudier les aliments ou les médicaments ayant une

influence sur l'augmentation de l'hémoglobine et de la masse sanguine totale. Dès 1925, il arrivait aux conclusions suivantes :

« 1° L'alimentation avec du foie de bœuf est l'agent le plus puissant de régénération de l'hémoglobine et des globules rouges.

» 2° Le cœur de bœuf, le muscle strié, ont un effet moins marqué que celui du foie.

» 3° L'arsenic n'a aucun effet, le fer par contre a une valeur considérable.

» 4° Pendant les périodes de diète favorable, l'organisme emmagasine des substances voisines de l'hémoglobine qui seraient utilisées ultérieurement dans la formation de cette substance et des globules rouges. »

Minot et Murphy devaient faire bénéficier la thérapeutique de ces recherches de laboratoire. De 1923 à 1926, ils essayèrent chez de nombreux malades la méthode de Whipple. Dépassant l'idée de Whipple, qui voyait dans le foie la médication des anémies banales, ils pensèrent qu'ils pourraient obtenir un effet heureux dans l'anémie de Biermer; pour eux, cette affection était une maladie par carence, et le régime au foie pouvait bien apporter le facteur nécessaire. En donnant de 120 à 240 g. de foie cru par jour à leurs malades atteints d'anémie pernicieuse, ils purent faire passer le nombre des globules rouges en moyenne de 1.500.000 à 4.000.000 après dix semaines de traitement, tandis que l'hémoglobine passait de 55 à 80 %. Seuls, 2 malades sur 45 n'avaient pas été améliorés.

De partout on devait signaler des résultats aussi heureux. Gutmann, en 1926, relate l'observation d'une biermérienne : « Le résultat obtenu après 75 jours de traitement par le foie, après échec dûment constaté des transfusions, alors que la malade semblait perdue à brève échéance, nous paraît absolument remarquable. »

M. E. Weill écrivait en 1928 : « La méthode de Whipple se montre d'une régularité parfaite d'action et d'une effi-

cacité telle qu'aucune autre méthode ne peut lui être comparée. »

Means disait : « Le foie est le traitement spécifique de l'anémie pernicieuse, comme l'orange celui du scorbut, l'huile de foie de morue celui du rachitisme et l'opothérapie thyroïdienne celui du myxœdème. »

Malheureusement, si cette méthode s'avérait remarquable, les médecins avaient de grosses difficultés pour la faire accepter à leurs malades.

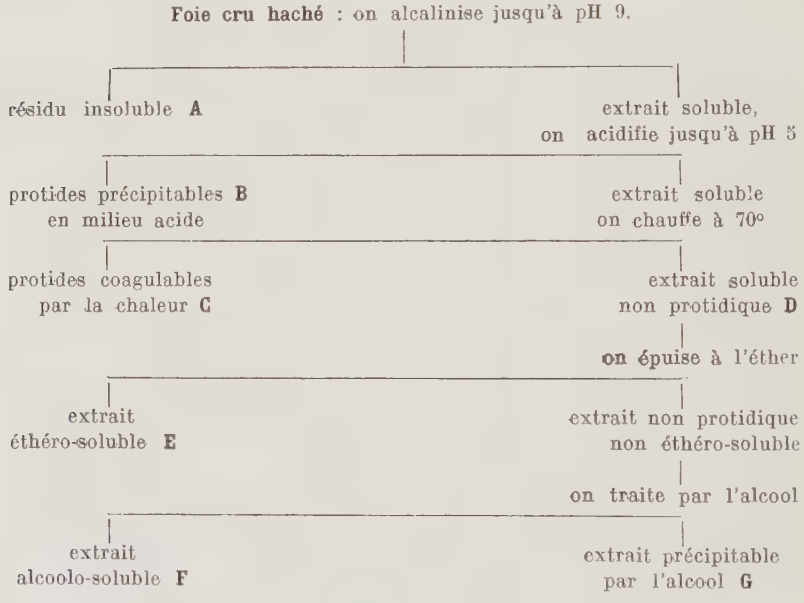
On conçoit aisément qu'une ingestion, autant que possible unique, de 200 à 600 g. de foie cru entraîne rapidement une inappétence et un dégoût tel que le biermérien refuse rapidement de suivre un tel régime. On essaya de donner du foie légèrement cuit plus facile à absorber mais moins efficace. L'ingestion par sonde gastrique ou par lavement nutritif fut préconisée. On s'ingénie à trouver des recettes multiples rendant le régime un peu moins barbare, tel le sandwich au beurre d'anchois, le goût relevé de ce dernier masquant la fadeur du foie cru. On prépara également du foie haché salé et aromatisé au citron, du foie à la sauce tomate; on devait même pousser l'excentricité jusqu'à présenter la méthode de Whipple sous forme de cocktail au foie de veau !

Cette méthode diététique, étant donné les quantités considérables ingérées, avait d'ailleurs, en apportant une telle ration azotée, de sérieux inconvénients chez les malades urémiques ou goutteux. Il fallait donc songer à remplacer ce régime alimentaire par une médication contenant le principe actif du foie, un extrait qui, sous un bien plus faible volume, apporterait le principe antipernicieux.

On obtint d'abord des extraits secs, qui, malheureusement, s'altéraient et avaient une fort mauvaise odeur; on les prenait dans du potage. On arriva à un extrait sec se présentant sous la forme d'une poudre blanche, mais il était souvent bien moins efficace.

Les extraits buvables vinrent faciliter largement l'emploi

de la méthode de Whipple. Aux premiers extraits aqueux ou glycérinés succédèrent rapidement les extraits buvables purifiés. C'est à E. I. Cohn que revient le mérite d'avoir posé les bases de la purification de ces extraits; dès 1927, dans le *Journ. of Biol. Chem.*, il rapportait la méthode qui lui avait permis d'éliminer les protides, les lipides, les glucides, sans diminuer l'activité de la préparation. Il arrivait à obtenir l'extrait G ou extrait 343, dont il résumait la préparation par le schéma suivant :

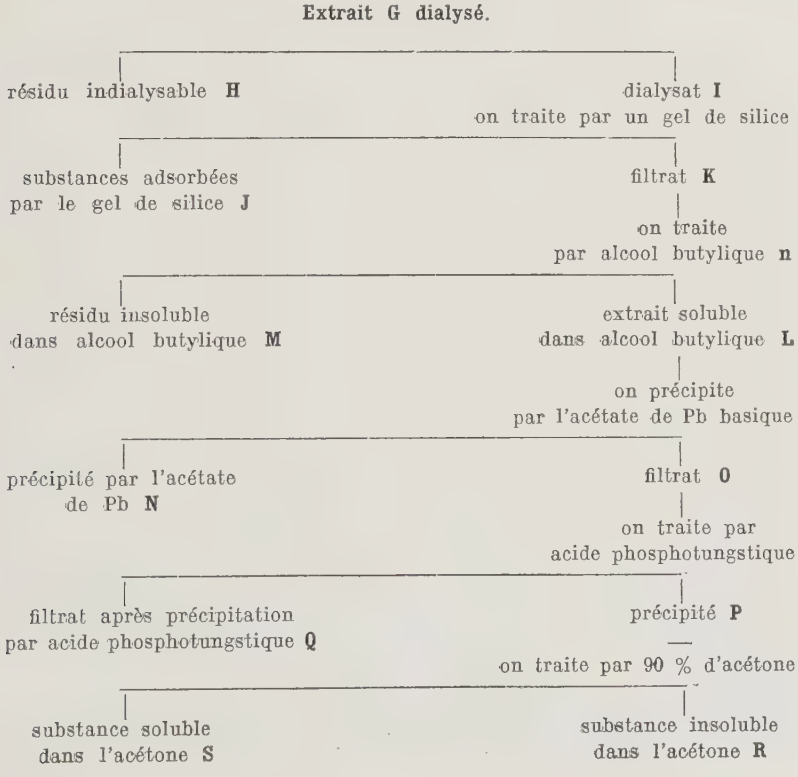


L'extrait G est actif à la dose de 20 à 30 g. par jour. Malheureusement, le seul ennui est qu'on l'obtient avec un très mauvais rendement, près de 50 % du principe anti-pernicieux contenu dans le foie frais servant à le préparer étant perdu. Aussi les extraits buvables doivent être donnés à des doses calculées en tenant compte qu'ils ne représentent pas plus des 2/3 de l'activité originelle de la quantité de foie dont ils proviennent.

La voie parentérale semblait préférable à l'administration

per os. Le principe antipernicieux pouvait être détruit au cours du trajet gastro-intestinal, son absorption ne semblant se faire qu'au niveau du duodénum. En 1929, l'extrait 343 a été essayé en injections intraveineuses après en avoir corrigé l'action hypotensive par l'addition d'adrénaline, mais c'est Gannslen qui, en 1930, prépara le premier extrait injectable par voie intramusculaire. Il se sert d'un suc d'expression de foie cru obtenu à haute pression et dont il n'a jamais donné le mode d'obtention et surtout de purification. Il arrivait à un extrait si peu concentré que celui obtenu en partant de 5 g. de foie était suffisant pour une dose journalière.

On chercha à purifier l'extrait G, le principe actif étant dialisable et n'étant pas absorbé par un gel de silice. Les purifications nécessaires sont résumées par le schéma suivant :



L'extrait R, quoique exempt d'albumine, de lipides et de glucides, est encore fortement azoté. On est arrivé à en enlever les albumoses, les peptones et les polypeptides. En le traitant par l'alcool à 95°, on élimine l'effet hypotensif, on a ainsi l'extrait IE, qui, employé en injections intraveineuses par Cohn, Minot et Mac Meekin, s'est montré trois mille fois plus actif que par la bouche.

En s'attachant surtout à augmenter la purification de ces extraits injectables, on est arrivé à des produits très actifs. En 1933, Murphy emploie une préparation dont l'injection intramusculaire de 3 cm^3 équivaut à l'absorption de 3 kg. de foie frais. En 1936, le même résultat était obtenu avec un seul centimètre cube. On tend aujourd'hui à substituer à la série d'injections quotidiennes une injection unique remplaçant la série.

II. — *La gastrothérapie.*

Castle fut frappé par la coïncidence de l'achylie gastrique et de l'anémie pernicieuse. Dès 1927, il se proposa de voir quelle était la relation qui existait entre ces deux faits cliniques.

Pour cela, il fit ingérer à des sujets sains de la viande de bœuf hachée et crue. Au bout d'une heure, il recueillait la régurgitation stomacale. Portée à l'étuve et ramenée à pH 5, cette macération fut donnée quotidiennement à des malades atteints d'anémie pernicieuse à la phase de rechute. Après une crise réticulocytaire, il y eut une augmentation du nombre des hématies de l'ordre de 1.000.000 au bout d'un mois.

Castle se contenta ensuite de recueillir le suc gastrique d'un sujet sain par tubage et de le mettre en contact *in vitro* avec de la viande de bœuf crue. Si ce contact est de l'ordre de deux heures, et cela à une température de 37°, cette macération a la même action thérapeutique que dans sa première méthode.

Il arriva aux conclusions suivantes : la viande crue, le suc gastrique, absorbés séparément, n'ont aucune action anti-

pernicieuse. Le facteur antipernicieux naît donc d'une interaction entre un élément du suc gastrique : le *facteur intrinsèque*, et une substance contenue dans la viande de bœuf : le *facteur extrinsèque*.

Le facteur intrinsèque n'est pas un des éléments connu du suc gastrique; en effet, il n'est pas dû à l'activité de la pepsine, pas plus qu'il n'est comparable à l'action du labferment ou à celle de l'acide chlorhydrique. L'action antipernicieuse n'est pas due non plus à la présence de salive, de suc duodénal ou de bile.

Le facteur intrinsèque seul est dépourvu de toute action hématopoïétique, il agit en milieu neutre comme en milieu acide, il est détruit par la chaleur : quelques minutes suffisent à l'ébullition, trente minutes à 80°. Il est soluble dans l'acétone. Il fait défaut dans le suc gastrique des biermériens. Castle l'assimile à une enzyme dont la carence serait la cause de l'anémie pernicieuse.

Le facteur extrinsèque ou exogène est apporté par le muscle de bœuf. Il précipite avec les protides du muscle. On croit pouvoir l'identifier à la vitamine B^2. Cette façon de voir est loin d'être admise, et l'on ne connaît pas mieux aujourd'hui sa nature exacte.

La méthode de Castle, dans sa forme originale, ne pouvait guère être employée d'une façon courante. Il était en effet assez difficile de trouver des volontaires pour l'obtention du suc gastrique. Castle put le remplacer dans la macération par de la muqueuse fraîche de porc. Henning et Brugsch remplacent la muqueuse par 5 g. de poudre d'antre pylorique. Klein remplace le suc gastrique par une poudre obtenue par précipitation du suc d'estomac pressé. Mais il restait la difficulté de donner au biermérien par tubage cette macération plus facilement obtenue.

L'opothérapie gastrique, en faisant appel à l'estomac de porc, devait naître par l'administration au cours du repas du biermérien de 500 g. d'estomac ébouillanté. Sturgis et

Isaac, en 1929, Connery, Scharp, obtiennent d'excellents résultats. Wilkinson, sur 108 cas traités, voit 92 % de ses malades, après un tel traitement, reprendre leurs occupations.

En substituant à l'opothérapie par l'estomac frais l'opothérapie par la poudre desséchée d'estomac, il s'agissait d'une poudre à peu près inodore et sans saveur donnée à la dose de 15 à 20 g. par jour, 30 g. de cette poudre correspondant à 2 cg. d'organes frais, on réalisa un certain progrès.

Meulengracht, montrant que les glandes pyloriques et cardiaques sont histologiquement semblables aux glandes de Brunner du duodénum, a utilisé des poudres desséchées préparées avec différentes régions localisées de l'estomac et du duodénum; il en conclut que les préparations pyloriques et duodénales sont très actives, que celles du cardia le sont moins, et que celles du fondus sont totalement inefficaces.

Moriss eut l'idée d'employer le suc gastrique concentré, distillé dans le vide au-dessus de 32° pendant 2 à 4 heures. Il obtint dans le traitement des anémies de Biermer des résultats qui n'avaient pas encore été atteints par l'hépatothérapie. Il pense que le suc gastrique contient le principe antipernicieux, qu'il s'agit d'une hormone, et il l'appelle l'Addisine. Il étalonne son produit en admettant qu'une unité correspond à 100 cm^3 de suc frais.

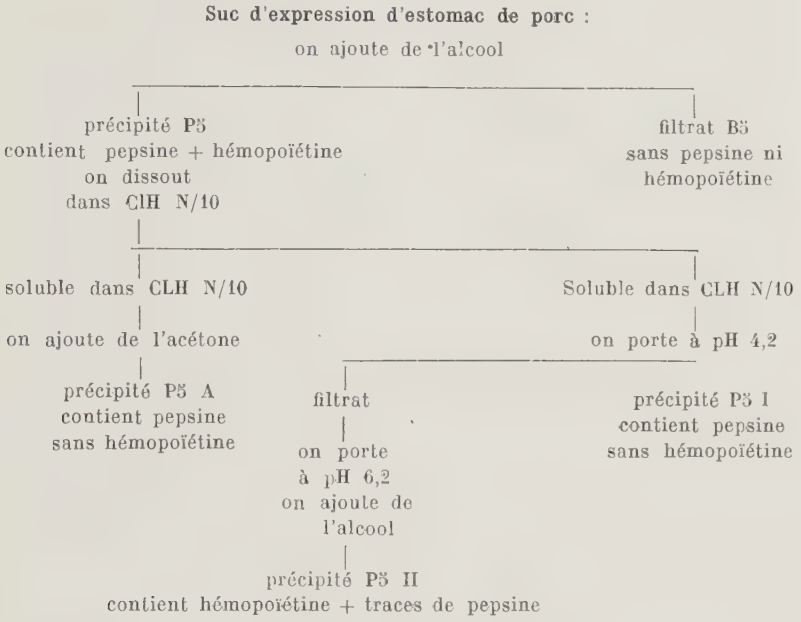
Il existe aujourd'hui des extraits aqueux de muqueuse, débarrassés de lipides et de protides, conservant leur activité.

Des extraits injectables sont aussi employés. Presque tous sont obtenus en partant de la muqueuse pylorique. D'après Rambert, ces extraits paraissent d'autant plus actifs que leur pouvoir peptique est plus faible.

Klein et Wilkinson ont essayé en 1933 d'obtenir des extraits concentrés et d'isoler le facteur intrinsèque qu'ils appelaient hémopoïétine. Ils partent d'estomacs de porcs frais soumis à une pression de 2 t. 1/2 par pouce carré. Pour 1 kg. d'estomac total, ils obtiennent 560 à 670 cm^3, tandis

que, pour 1 kg. de muqueuse, ils obtiennent 305 à 340 cm³ de liquide visqueux rougeâtre qui contient de 1,6 à 2 % de protéines et dont le pH est voisin de 6,2.

Le schéma suivant résume le traitement successif qu'ils lui font subir :



Ce précipité P5 II, actif dans les anémies, a un pouvoir peptique faible; il donne les réactions des protéines et contient des traces de cuivre et de fer. Son activité disparaît par chauffage même peu prolongé au-dessus de 45°, ou par attaque par la pepsine ou la trypsine. Pour Klein et Wilkinson, le facteur intrinsèque ou hémopoïétine serait une enzyme à support protéique.

Des fractionnements du même genre à partir du suc de muqueuse gastrique leur permettent d'en éliminer la pepsine et d'obtenir un précipité J3 mucosa d'activité peptique faible mais actif chez les biermériens. Cette activité est également thermolabile.

Par action de P5 ou P5 II sur du muscle de bœuf à pH 5,7

et à l'étuve à 37°, ils obtiennent des produits antipernicieux très actifs, résistant une demi-heure à 60°.

Si alors ils appliquent à ces produits les techniques de fractionnements de Cohn par addition d'alcool pour une teneur en alcool de 70° C, ils obtiennent un premier précipité inactif. Le filtrat est précipité par dix volumes d'alcool absolu. Le deuxième précipité est soluble dans l'eau et injectable par voie intramusculaire; il aurait les mêmes caractéristiques que le principe hépatique. Il ne présente pas les caractères des protides, est soluble dans l'eau et dans l'alcool à 70°, insoluble dans l'alcool à 90°, thermostable.

Klein et Wilkinson pensent avoir réalisé la synthèse du principe antipernicieux et l'expriment par l'équation :

Hémopoïétine gastrique + viande de bœuf = facteur hépatique.

III. — *L'extrait hépato-pyloro-gastrique.*

L'hépatothérapie et la gastrothérapie sont donc deux méthodes voisines, l'une faisant appel au principe antipernicieux stocké dans le foie, l'autre réalisant la synthèse de ce principe par la réaction du facteur intrinsèque sur le facteur extrinsèque.

Loin de se contrarier, ces deux méthodes semblaient pouvoir s'associer, afin d'obtenir un produit suractivé. Les résultats publiés par Holmer, Fonts et Zerfas, Riermann Walden, Cloves et Franke montrèrent qu'il en était ainsi. Le plus souvent, on faisait agir le suc gastrique sur le foie frais à l'étuve. Parfois on mélangeait l'extrait hépatique à du tissu gastrique.

Fonts et Zerfas arrivaient aux conclusions suivantes : « L'activité du foie et de ses extraits est augmentée de 3 ou 4 fois par l'action de suc gastrique. L'augmentation de l'activité n'est pas seulement additionnelle. »

Walden et Cloves obtiennent une préparation en capsules de 6 g., qu'ils donnaient à la dose de 12 capsules par jour.

D'après ces auteurs, 4 g. d'extrait hépatique et 2 g. de tissu gastrique sont aussi actifs que 20 g. de foie seul.

Franke, en 1934, après avoir observé 181 cas d'anémie pernicieuse, assure que le procédé le plus efficace est d'administrer par tubage duodénal du suc de foie et du suc gastrique préalablement mis en présence.

Se basant sur ces données, J. Gautier essaya de réaliser d'une façon industrielle, non seulement l'association de l'hépatothérapie et de la gastrothérapie, mais leur combinaison.

Par une nouvelle technique, il met le foie en contact intime, grâce à un broyage très poussé, avec la muqueuse d'estomac. Le principe antipernicieux préformé dans le foie, le facteur intrinsèque et le facteur extrinsèque ainsi réunis pouvaient réagir les uns sur les autres.

Nous empruntons à Mouras les renseignements concernant les premières préparations d'extraits buvables obtenues par J. Gautier : « Avant de réaliser la combinaison envisagée, on a préparé un mélange d'extraits d'organes :

» 1° Un extrait liquide hydro-alcoolo-Glycériné de foie de veau;

» 2° Un extrait liquide hydro-alcoolo-glycériné de muqueuse gastrique prépylorique.

» Ces deux extraits furent préparés par les procédés classiques avec des organes frais, ni réfrigérés ni congelés.

» 1.000 cm³ de chacun de ces extraits correspondent à 10 kg. d'organes; avec :

400 cm³ de l'extrait liquide gastrique;
600 cm³ de l'extrait liquide de foie,

on a Extrait n° 1.

» Puis, tenant compte des températures et des produits qui détruisent — ou sont susceptibles de détruire — les constituants actifs du foie et de la muqueuse gastrique, les dessiccations d'organes frais, les concentrations des liquides de

macération, les distillations et les récupérations des excipients, furent faites dans le vide aussi poussé que peuvent le permettre les appareils industriels, et à une température voisine de 40° C, sans jamais la dépasser, comme nous avons pu le constater. Seule la coagulation des albumines fut faite à la température de 70° C avec toutes les précautions obligées.

» Lorsqu'on a obtenu la solution totale des principes antianémiques, ceux-ci sont précipités par une très grande quantité d'alcool à 96°.

» Ce précipité, constitué par une masse pâteuse d'un jaune brun, est lavé encore à l'alcool fort, dissous dans une quantité convenable d'eau additionnée de glycérine à 30° et d'une petite quantité d'alcool.

» 1.000 cm^3 de la liqueur ainsi obtenue correspondent encore à 10 kg. des deux organes réunis selon les proportions choisies,

soit l'Extrait n° 2.

» Les alcools de précipitation et de lavage mis de côté sont repris pour être récupérés par distillation. En fin d'opération, il reste au fond de l'appareil à distiller un résidu pâteux ayant tout à fait l'apparence du précipité obtenu précédemment.

» Lavé dans l'alcool dissous dans une quantité convenable d'eau additionnée de glycérine à 30°, alcoolisée, et sous même concentration, il donne

l'Extrait n° 2 *bis*,

également actif.

» L'obtention de l'Extrait n° 2 *bis* entraîna à la préparation d'un extrait nouveau suivant une technique nouvelle permettant d'extraire en une seule opération les principes actifs contenus dans les Extraits n° 2 et n° 2 *bis*, soit un Extrait n° 3, dont l'effet thérapeutique devait être plus actif que chacun de ces deux extraits pris séparément.

» Tandis que l'Extrait n° 1, simple mélange d'extraits, est

d'une couleur foncée — comme toutes les préparations de ce genre — et d'un goût *sui generis*, celui d'une solution d'organes d'animaux, quoique atténué, l'Extrait n° 3, préparation nouvelle, a une couleur jaune clair, d'un goût agréable, ne rappelant en rien ses constituants. »

L'expérience clinique prouva que la technique de la préparation de l'extrait n° 3 était supérieure aux autres.

J. Gautier essaya d'obtenir des préparations suffisamment purifiées pour qu'elles soient injectables. En collaboration avec J.-P. Glaunès, il nous chargea d'étudier cet extrait hépato-pyloro-gastrique injectable.

L'extrait hépato-pyloro-gastrique est préparé grâce à des foies de jeunes bovins et de muqueuses gastriques de porcs adultes. Ces organes, prélevés sous le contrôle des services vétérinaires, sont soigneusement épluchés et débarrassés des parties graisseuses dans un local spécial installé dans le centre d'abattage même. Ces organes sont ensuite transportés au laboratoire qui a été construit à proximité de l'abattoir. Malgré ce court espace qu'ils ont à parcourir, le transport des organes se fait dans des conditions particulièrement bien étudiées. Ils sont alors pulpés ensemble aussi finement que possible et laissés en contact pendant le temps suffisant pour bien amorcer l'interaction facteur endogène-exogène, action qui se poursuit lors de la dessiccation de la pulpe dans le vide à basse température.

Le principe actif est extrait grâce à plusieurs macérations dans l'alcool. L'extrait sec résultant d'un kilo d'organes (foie, 600 g.; muqueuse d'antre pylorique, 400 g.) est dissous dans la solution :

Chlorure de sodium pur cristallisable.....	0 g. 08
Eau distillée stérilisée.....	10 g.

On répartit en tubes scellés, que l'on stérilise. Le liquide est clair, sans odeur fétide, son pH est de 3,6, son pouvoir tampon est tel que le volume de solution de soude centinormale employée est inférieur à 4 cm^3 pour 1 cm^3 d'extrait.

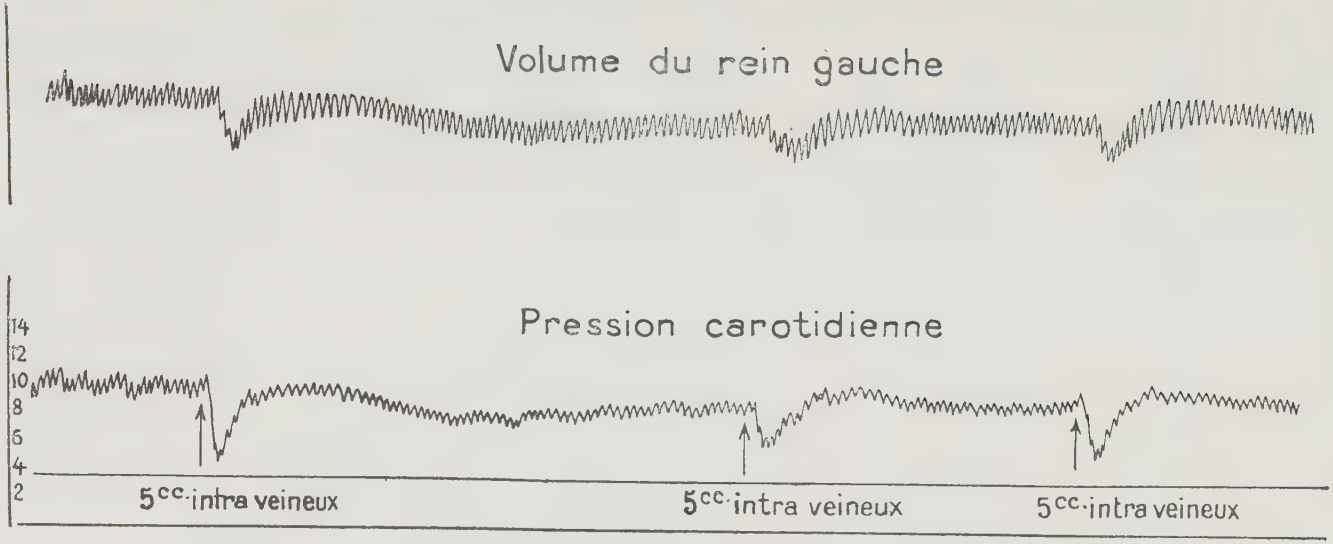
L'essai de l'asepsie se fait en ensemençant un bouillon de culture que l'on porte à l'étuve à 37° durant 24 heures.

Aujourd'hui, grâce aux méthodes que nous exposerons plus loin, tout lot de préparation de l'extrait hépato-pyloro-gastrique est étudié au point de vue de sa valeur antianémique de façon à ce que les préparations livrées aux médecins aient une activité thérapeutique comparable.

L'extrait hépato-pyloro-gastrique injectable doit être administré par voie intramusculaire. Chez l'adulte, la dose d'attaque est de 5 cm^3 par jour.

Etant donné l'effet hypotensif de l'extrait, la voie intraveineuse ne pourrait être utilisée qu'en prenant de sérieuses précautions.

Effets de l'injection intraveineuse d'extrait hépato-gastro-pylorique chez le chien.



CHAPITRE II

METHODES EXPERIMENTALES POUR L'ETUDE DES PRODUITS ANTIANEMIQUES

Malgré les innombrables travaux qui depuis vingt ans ont succédé aux premières recherches de Whipple, on ignore encore ce qu'est le principe antipernicieux. Les différents auteurs n'ont même pas établi d'une façon nette la différence qui existe entre le principe antianémique et le principe antipernicieux. Bien souvent même ces deux termes sont confondus.

Whipple et ses collaborateurs ont pourtant démontré qu'il s'agissait de deux substances différentes. En effet, le principe antianémique qui agit dans les anémies secondaires peut se trouver dans des préparations totalement dépourvues du principe antipernicieux.

Le facteur antianémique jouerait surtout dans la formation de l'oxyhémoglobine, tandis que le facteur antipernicieux agirait sur le pouvoir hématopoïétique de la moelle osseuse, déclencherait la poussée réticulocytaire, par conséquent l'augmentation des globules rouges. Naegeli va même jusqu'à donner uniquement à ce facteur antipernicieux le rôle de rétablir l'érythropoïèse embryonnaire mégaloblastique en érythropoïèse normoblastique.

Si, malgré les travaux de Cohn, Minot et Meekin, de Dakin, West et Howe, de Fontes et Tivolles, de Bence et Erdoes, d'Alexsandrowikz et Gabrielski, et tout dernièrement ceux de Karrer, on n'est pas arrivé à préciser la nature du principe antipernicieux, c'est que l'on n'a pas trouvé une méthode expérimentale qui en facilite l'isolement. On ne connaîtrait pas la constitution chimique exacte des vitamines si des expérimentateurs n'avaient pas d'abord défini un test ani-

mal pour chaque cas. Ces mêmes chimistes, qui sont allés jusqu'à obtenir par synthèse les vitamines, n'ont pas pu donner la formule brute du principe antipernicieux.

Des différentes méthodes expérimentales employées pour l'étude des produits antianémiques, la plupart ne peuvent guère servir qu'à l'étude du facteur antianémique secondaire, c'est-à-dire n'ont pratiquement aucun intérêt. On s'est adressé très souvent à des anémies expérimentales, on s'est servi aussi des anémies spontanées de l'animal, enfin on a parfois étudié des produits antianémiques grâce à des tests faisant appel à des animaux sains.

L'homme atteint de maladie d'Addison-Biermer a aussi été utilisé pour cette étude.

I. — *Les anémies provoquées.*

Les anémies provoquées expérimentalement ont été à la base de la plupart des travaux. Elles semblent pourtant être fort critiquables et n'ont d'autres possibilités que de servir à l'étude du principe antianémique. Encore faut-il que la méthode d'obtention de l'anémie puisse assurer un état hématologique stable sans que ses conséquences sur l'état général de l'animal viennent sérieusement compliquer, voire compromettre, toute conclusion. On a l'habitude de classer les anémies expérimentales en anémies par soustraction et en anémies par destruction.

1° Les anémies par soustraction.

a) *Les anémies par hémorragies*, par saignées répétées, ont été les premières employées, et Whipple s'en était servi pour ses études. Elles ont l'avantage d'être facilement réalisables, surtout sur le chien, soit par ponction du cœur ou de l'artère fémorale; elles n'entraînent aucun phénomène destructeur des éléments du sang et de la moelle. C'est cette méthode qui a également été employée par Fontes et Tivolles

en lui apportant le plus de rigueur possible. Les saignées peuvent être également effectuées chez le lapin par ponction du cœur, de la veine jugulaire et des veines auriculaires. L'organisme de l'animal tendant normalement à régénérer les hématies et l'hémoglobine, on est obligé d'avoir un lot d'animaux recevant le produit antianémique, tandis qu'un lot témoin indiquera la marche de la régénération spontanée. C'est par comparaison de la rapidité du retour à la normale dans les deux cas que l'on pourra apprécier l'effet du médicament.

b) *Les anémies par régimes spéciaux* viennent soustraire à l'animal l'apport alimentaire qui lui est nécessaire pour assurer son hématopoïèse.

Une *diminution quantitative* de l'alimentation normale ne donne pas d'anémie. Jolly, dans son traité d'hématologie, a étudié l'action de l'inanition sur l'anémie, qu'il considère n'avoir pas de relations directes avec l'insuffisance de nourriture. S'appuyant sur les travaux d'Hosselin (1882) et d'Eberstadt (1913), etc., il conclut : « L'inanition est donc en général un facteur médiocre accessoire de l'anémie. » Malassez, dès 1894; Hayem, arrivaient à des conclusions du même ordre.

Si nous avons effectué un tel essai sur des lapins et des rats, c'est qu'une telle étude avait été imposée par un organisme officiel; c'est pour cela que nous ne jugeons pas inutile de rapporter des expériences aussi longues que stériles.

Nous sommes partis avec 25 lapins sains et vigoureux, dont le poids moyen, après huit jours d'isolement dans le local d'expérience, était de 1.933 g.

Ils ont été soumis au régime alimentaire suivant :

1er septembre : son + verdure à discrétion;
8 septembre : 100 g. de son + eau;
15 septembre : 50 g. de son + eau;
22 septembre : 33 g. de son + eau à discrétion;
4 octobre : 20 g. de son + 10 g. de riz séché + eau.

Le 10 octobre, il ne subsistait que 6 animaux d'un poids moyen de 1.654 g., la perte de poids ayant été de 22,5 %. Les animaux ont supporté sans trop maigrir le rationnement de moitié (perte de 0,7 %) mais ils ont dépéri très rapidement dès que la ration a été amenée au tiers (voir courbe).

La mortalité correspond donc à cette date à 76 %, dont les 16 % pendant la période des rations réduites à moitié et 60 % pendant la période des rations réduites au tiers (voir courbe).

Nous avons pratiqué l'autopsie dès leur mort. Ils n'ont jamais présenté le moindre symptôme de maladie infectieuse ou parasitaire. Tous les organes paraissaient parfaitement sains. Nous ne pouvons attribuer la mort qu'à l'inanition. Une autopsie de contrôle a été effectuée par M. A. Perrens, Médecin-Vétérinaire à Bordeaux, qui conclut : « Lapins morts d'une alimentation insuffisante, ne présentant aucun symptôme de maladie. »

Au point de vue hématologique, les lapins ont, durant cette période, subi cinq examens. Le sang était prélevé dans une veine de l'oreille. L'hémoglobine évaluée à l'échelle colorimétrique; les numérations faites sur une dilution au 1/200 de solution de Marcano, à l'hématimètre de Malassez; à chaque prélèvement, trois frottis étaient effectués pour le décompte des réticulocytes et éventuellement l'établissement de la formule leucocytaire.

Aucun des 6 animaux subsistant au 10 octobre n'avait présenté une anémie ayant justifié un essai thérapeutique. La moyenne des globules rouges était au départ de 5.560.000 et le 10 octobre de 5.530.000. L'hémoglobine n'a pas varié, restant au voisinage de 100; rien de spécial à noter du côté des globules blancs ni des réticulocytes.

Des 6 animaux restant le 10 octobre, l'un est mort le 13, l'autre le 15, un autre le 17. L'expérience a été alors arrêtée.

De même, nous sommes partis avec un lot de 25 rats blancs provenant d'un élevage spécialisé fournisseur de laboratoires; leur poids moyen, après 8 jours d'isolement et d'accoutumance dans le local d'expérience, était de 150 g.

Ils furent soumis au régime alimentaire suivant :

5 septembre : 40 g. de pain imbibé de lait;
16 septembre : 20 g. de pain imbibé de lait;
23 septembre : 13 g. de pain imbibé de lait + eau;
3 octobre : 10 g. de pain sec + eau à discrétion;
13 octobre : 5 g. de pain sec + eau à discrétion.

Le 29 octobre, il ne subsistait que 17 animaux d'un poids moyen de 107 g., soit, pour ces animaux, une perte de poids de 27,4 %. La ration de départ ayant été choisie trop forte, ces animaux n'ont pas perdu de poids, même avec une ration réduite de moitié. Il est à noter que, même avec une ration réduite au tiers, mais avec de l'eau à discrétion, ils ont augmenté leur poids de plus de 10 %. C'est au cours de la ration réduite au quart que la perte de poids débute, pour s'accentuer brutalement avec une ration réduite au 1/5.

Le premier décès ne se présente que le trente-neuvième jour de l'expérience, au cours du jeûne correspondant à une ration réduite au 1/5, mais la mortalité croît rapidement, pour atteindre 32 % le cinquantième jour.

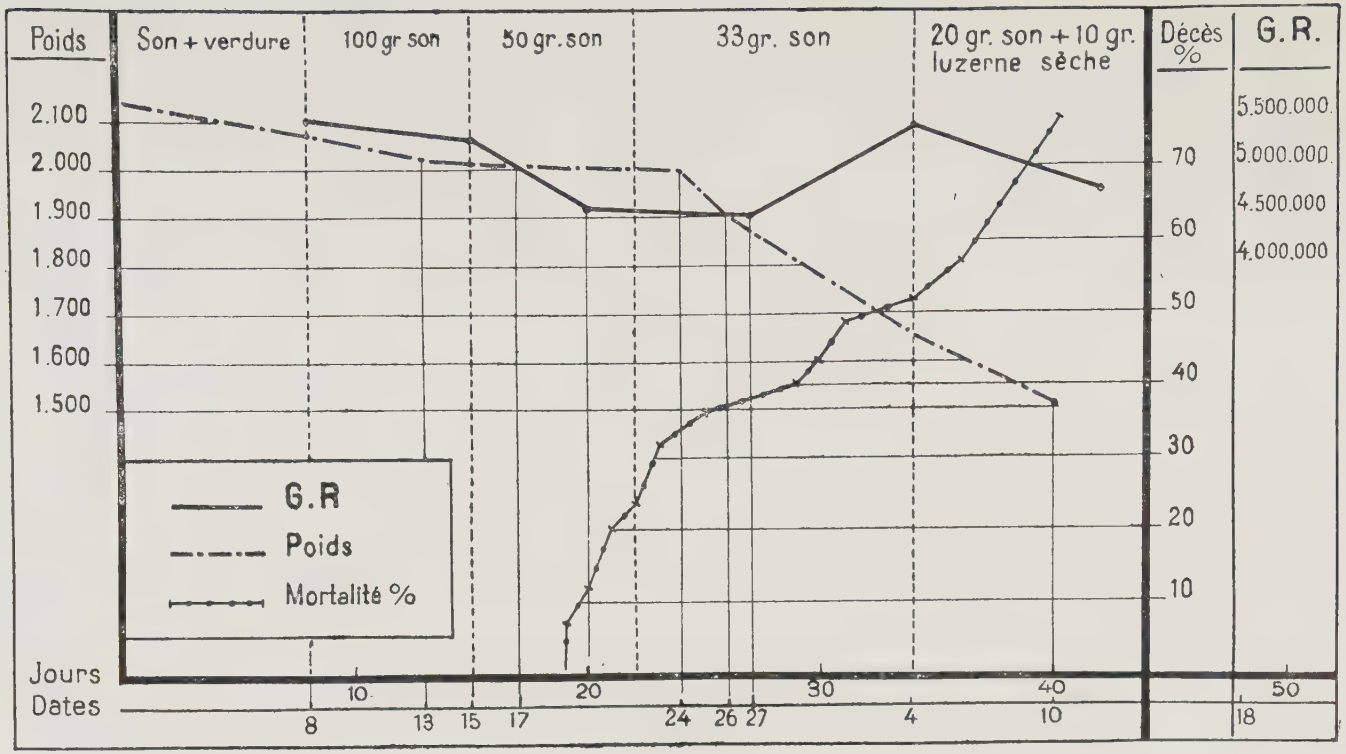
Au point de vue hématologique, en ne considérant que les globules rouges, nous ne retiendrons que les constatations portant sur les dix-sept animaux survivants.

Nous avons vérifié une fois de plus l'opinion de certains hématologistes, et particulièrement celle de notre Maître, M. le Professeur Sabrazès, qui considèrent le rat comme impropre à une étude hématologique portant sur une numération globulaire.

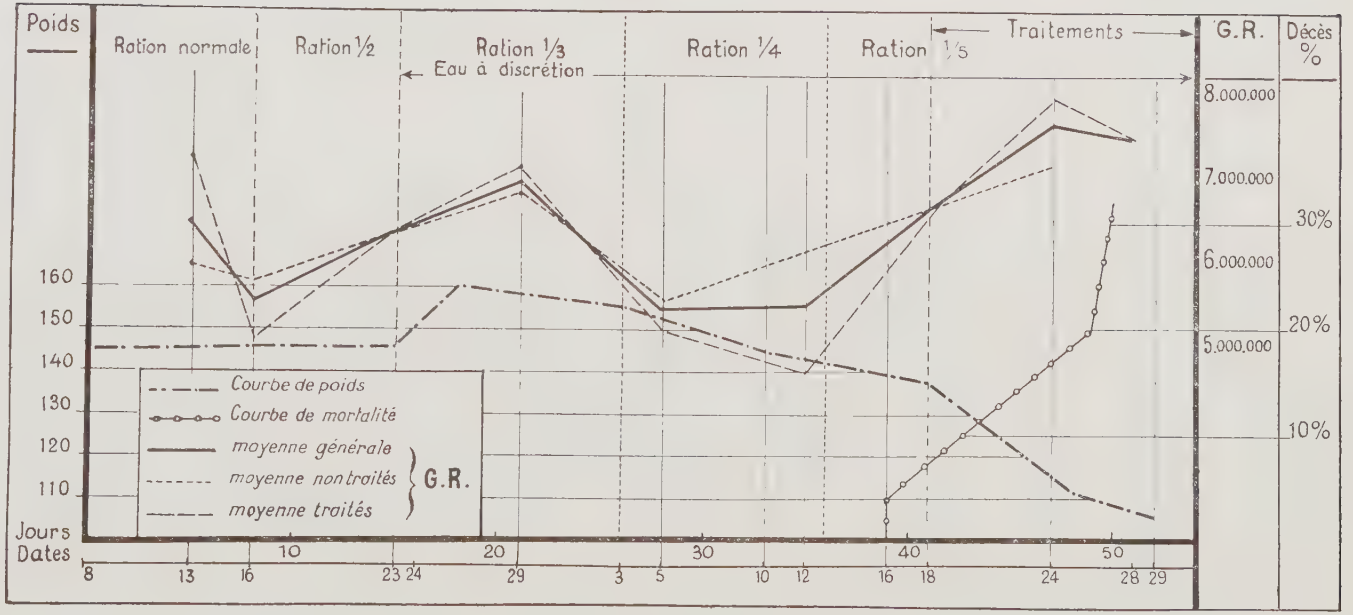
En effet, en établissant la moyenne de chacune des numérations successives des 17 rats, nous pouvons penser atténuer l'influence des variations individuelles, ainsi que celles des erreurs d'expériences. Nous observons cependant des écarts considérables et inexplicables d'une numération à l'autre. Ces écarts considérés en valeur et dans le temps dépassent ce que l'on peut attendre d'un traitement actif.

Le 18 octobre, il y avait 2 rats morts. La mortalité s'était

Effets de la diminution quantitative de la ration alimentaire des lapins.



Effets de la diminution quantitative de la ration alimentaire des rats.



rapidement accrue chez les lapins sans qu'ils présentent une anémie justifiant un traitement. Afin de ne pas assister à nouveau à la disparition de nos animaux sans en tirer le moindre profit, quoique ne considérant pas ces rats comme anémiés, nous avons tout de même institué un traitement. Parmi les 23 rats survivant à cette date, 6 ayant présenté les nombres de globules rouges les plus bas et qui semblent les plus affaiblis, ont reçu des injections intramusculaires d'extrait hépato-gastrique.

A la fin de l'expérimentation, le 29 octobre, les 6 rats traités survivaient, alors que, des 17 autres, il n'en restait que 13. Mais le poids des animaux traités a continué de baisser comme celui des autres.

La *diminution qualitative* de la ration alimentaire peut donner facilement une diminution des globules rouges.

L'anémie au lait est provoquée par une carence en fer et en cuivre; elle a été employée par les auteurs américains Elvehjem, Beard et tous leurs collaborateurs avec du lait de vache à discrétion pour les rats. Elle a aussi été employée chez le jeune chien; elle ne peut servir qu'à l'étude du rôle des ions métalliques dans la régénération de l'hémoglobine.

L'anémie au lait de chèvre a été étudiée par Romiger, qui prétendait qu'elle conduisait à une anémie hyperchrome à réticulocytose élevée guérissable par les extraits de foie. S'il en était ainsi, elle serait intéressante pour l'étude des extraits de foie ou d'estomac. Malheureusement, de nombreux expérimentateurs ayant voulu s'en servir n'ont obtenu qu'une anémie hypochrome semblable à celle donnée par le lait de vache.

L'anémie par le régime de Goldberger amène chez le chien la black-tongue. Lorsqu'il présente cet état, on ajoute du pyramidon ou de l'indol, et on obtient une anémie importante. On sait aujourd'hui que la black-tongue est le symptôme de l'avitaminose PP et qu'il suffit d'ajouter de l'acide nicotinique ou son amide pour voir disparaître les troubles.

Jacobson a obtenu des anémies chez le cobaye. Whistehead et Barlow déterminent une anémie chez les rats par un régime composé de riz poli cuit et de sel. Woldmann, toujours chez le rat blanc, par un régime constitué de riz glacé, de caséine et de sel, obtient une diminution des globules rouges. Ira, Manville, suppriment simplement de la ration des rats blancs le complexe B. De telles anémies, si elles sont guéries par le médicament étudié, prouvent simplement que cette préparation apporte le produit soustrait par le régime. A notre sens, elles n'ont aucune valeur pour l'étude du principe antipernicieux.

2° Les anémies par destruction.

Pour obtenir des anémies par destruction, on s'adresse le plus souvent à des substances chimiques toxiques, de façon, soit à provoquer l'hémolyse du globule rouge, soit à transformer l'hémoglobine en méthémoglobine. On a fait appel à des substances toxiques naturelles, comme les venins, les acides biliaires, les sérums, ou à des produits chimiques, comme l'hydrogène arsénié, le nitrite de sodium, les phénols, l'aniline, etc.

L'anémie au plomb a été employée par un très grand nombre d'auteurs. Notre Maître, M. le Professeur Sabrazès, l'employait dès 1906. L'action du plomb sur la moelle osseuse est bien connue en clinique. L'anémie expérimentale qu'elle entraîne est une de celles qui se rapprochent le plus de l'anémie de Biermer. Le lapin est employé de préférence au rat et au cobaye. Duesberg, Netter, Stazzi et Fontana, Arthus, en ont fixé la modalité. Gottlebe pense que cette anémie expérimentale est à rejeter à cause de la rapidité avec laquelle la régénération globulaire spontanée s'effectue. L'expérimentation ne va pas d'ailleurs sans quelques difficultés. Lombard avoue même qu'il en a eu de considérables. En effet, si l'injection fuse en dehors des vaisseaux, la throm-

bose des veines auriculaires vient rendre les injections très difficiles. Parfois aussi les animaux succombent d'intoxication plombique indiscutable.

L'extrait hépato-pyloro-gastrique buvable a été étudié par cette méthode et suivant la technique d'Arthus. L'expérimentation porta sur 100 lapins adultes d'un poids moyen de 2 kg. Ils étaient nourris avec de la luzerne verte ou sèche, un mélange d'avoine ou de son, du foin, et des débris de légumes divers. On leur injecta dans la veine marginale de l'oreille une solution d'acétate neutre de plomb au 1/1.000. On essaya d'obtenir une diminution des globules rouges de l'ordre de 2.000.000. Le protocole de ces expériences est rapporté dans la thèse de Mouras.

Trois premiers lots d'animaux, après 35 jours d'expérience, accusaient tous une diminution du nombre des hématies, le lapin n° 7 présentant la plus faible, avec 1.675.000, tandis que le lapin n° 9 accusait la plus forte, avec 2.875.000.

Le premier lot reçut journellement 2 cm³ d'Extrait n° 1, tandis que le deuxième et le troisième recevaient la même quantité d'Extrait n° 2 et n° 2 *bis*. La comparaison de l'augmentation journalière moyenne donnait les résultats suivants :

48.000 globules rouges avec l'Extrait n° 1;
80.000 globules rouges avec l'Extrait n° 2;
180.000 globules rouges avec l'Extrait n° 2 *bis*.

Comme nous le verrons plus loin, la comparaison de l'Extrait n° 1 et n° 2 *bis* ayant servi à cette expérience fut effectuée par la méthode de Walbach. Elle concluait à une action dix fois plus forte de l'Extrait 2 *bis*.

Cinq autres lots de lapins servirent à étudier l'effet de doses différentes d'extrait. L'anémie obtenue fut de la même importance. Dès qu'elle fut installée d'une façon stable, on administra aux animaux du premier lot 1/4 cm³ par jour, à ceux du deuxième 1/3, à ceux du troisième 1/2, à ceux du quatrième 1 cm³, enfin, à ceux du cinquième, 2 cm³. Ces

doses différentes n'amenèrent pas une très grande variation dans la rapidité de la régénération sanguine, qui fut de l'ordre de 83.000 globules rouges par jour. Il s'agissait d'un extrait buvable.

L'anémie par la saponine fut employée par Bunting en 1929; elle lui donna chez le lapin une forte anémie. Cette méthode expérimentale a été fort discutée. Agit-elle par action hémolytique ou par altération de la moelle ? L'ablation de la rate vient-elle l'empêcher ? Les avis sont loin d'être unanimes. Gottlebe, en 1936, s'il obtient des anémies graves chez le lapin avec des doses d'injection de 0,7 à 1 mg. par kilo, assure que ces anémies rétrocèdent si on arrête ces injections et que le foie n'agit ni curativement ni préventivement.

Les anémies par la phénylhydrasine furent étudiées par Opp-Seyler en 1885 sur le lapin. Kaminer, par injections quotidiennes de 1 cg. de phénylhydrasine pendant 15 jours voit apparaître une anémie mégaloblastique; mais cette anémie, à la différence de celle de Biermer, tend à guérir spontanément. Ruysniack et Engel étudient les extraits hépatiques en tenant compte du freinage qu'ils provoquent dans la chute globulaire déclenchée par une injection unique chez le chien. Erdoes en fait de même avec le lapin. L'unité biologique proposée serait la quantité de foie capable de neutraliser 1 cg. de phénylhydrasine. Mais avec une injection unique on n'obtient qu'une anémie tout à fait banale et bénigne, n'ayant aucun effet sur la moelle osseuse. De ce fait, il nous semble qu'elle est incapable de servir à l'étalonnage du principe antipernicieux.

L'anémie expérimentale par les acides gras est basée sur les constatations de Faust et Tallquvist au sujet de l'anémie bothriocéphalique. Après avoir vu que cette anémie était due à un acide gras provenant du parasite, ils provoquèrent des anémies hyperchromes par ingestions ou injections de sel de sodium d'acide gras non saturé. Cette méthode, employée par Szent-Gyorgyi et Gottlebe, donne une excellente

anémie, mais elle a l'inconvénient d'être peu sensible à la médication hépatique.

Enfin on a également essayé d'obtenir un état anémique par le *blocage du système réticulo-endothélial;* on a même combiné cette méthode avec celle de la saponine. Gottlebe recommande l'emploi des anémies saponine-fer colloïdal ou saponine-collargol chez le lapin ou chez le rat pour l'étalonnage des préparations hépatiques. Cependant, Schabbel et Bareuther ont trouvé des résultats fort différents et rejettent une telle méthode.

A côté des anémies expérimentales obtenues grâce à l'action de produits chimiques définis, il faut ranger les anémies par toxines bactériennes, réalisées chez le singe ou le lapin par des injections de toxines, de cultures ou d'autolysat de culture. Le *B. perfringens*, le *B. coli*, le streptocoque et le B. typhique ont été employés. Après avoir connu une certaine vogue, cette méthode a été fort critiquée par Gottlebe et tout dernièrement par Creskoff et Fitz-Hugh, qui ne trouvent pas d'effet thérapeutique régulier du foie sur une telle anémie.

On a essayé de pratiquer des anémies expérimentales par des *interventions chirurgicales* sur l'animal.

Certains auteurs, se basant sur le fait que la sténose intestinale amène souvent une anémie symptomatique du type pernicieux, ont essayé de réaliser de telles sténoses, notamment chez le chien. Différentes techniques opératoires ont été suivies; on a réalisé des diverticules de l'intestin grêle. Si l'anémie est obtenue, elle n'a cependant aucun rapport avec l'anémie de Biermer.

En effectuant des gastrectomies chez le chien, le rat, le lapin, le singe, et tout particulièrement chez le porc, on arrive à créer une anémie expérimentale fort intéressante. Les travaux de Bence doivent être particulièrement retenus; il obtient en effet une anémie hyperchrome macrocytaire mégaloblastique. Wattermann Kohn et Hirschfeld ont con-

firmé ces résultats. Il est fort regrettable que cette méthode ne puisse pas être d'un emploi courant. S'il est déjà fort difficile de prévoir pour un laboratoire un élevage de tels animaux — surtout à l'heure actuelle — la difficulté s'accroît lorsque l'on songe qu'il faut attendre deux ou trois ans avant que l'anémie hypochrome du porc veuille bien se transformer en anémie hyperchrome !

Les agents physiques ne devaient pas être oubliés en tant que facteurs anémiants. Depuis qu'ils existent, on connaît leur action nocive sur le sang et les organes hématopoïétiques. Lambin et Cornil injectèrent à des lapins du nitrate de thorium à la dose de 1 mg. par kilo. En 10 semaines, une anémie apparaît, conduisant l'animal à la mort en 3 à 5 mois. D'après Arthus, l'anémie ainsi produite est assez inconstante.

En 1938, Benda essaya d'obtenir chez le cobaye une anémie grâce à l'irradiation par les rayons X, mais l'anémie qu'il provoqua n'est pas durable. A la même époque, nous avions essayé cette méthode, pensant que son intérêt résidait surtout dans le fait d'avoir pour tous les expérimentateurs une dose fixée une fois pour toutes pour un animal déterminé. J.-P. Glaunès ayant étudié l'action de l'irradiation sur le sang et sur la moelle des animaux d'expérience, nous fûmes amenée à abandonner cette méthode tant l'effet est complexe, dépassant de beaucoup l'action sur la lignée rouge.

II. — *Les anémies spontanées.*

La méthode expérimentale ne pouvant arriver à créer une anémie comparable au type Addison-Biermer, il aurait été souhaitable de trouver chez l'animal une anémie spontanée qui s'en rapproche.

En 1931, Mac Gowan et Sinclair observèrent une maladie spontanée des poules Leghorn produite par *Davaina proglottina;* elle se rapproche beaucoup de l'anémie pernicieuse

humaine et est fort sensible aux extraits antianémiques. Il est fort difficile de se procurer des poules présentant cette anémie pernicieuse. L'infestation expérimentale de l'animal est fort délicate.

L'anémie à Bartonnella est, elle, au contraire, fort répandue. Assez bien supportée par l'animal, elle se transforme immédiatement en anémie sévère hyperchrome macrocytaire, soit en enlevant la rate, soit en bloquant le système réticulo-endothélial, deux choses d'ailleurs qui ne sont pas tellement différentes.

En associant ainsi la méthode expérimentale à cette anémie spontanée, on aboutit ainsi à un état qui est le plus voisin de la maladie de Biermer.

Schelling décrivit dans les anémies de Biermer des inclusions rappelant les Bartonnella et qu'il baptise *érytrokonten*. Aujourd'hui, on n'admet plus le moindre rapport entre ces inclusions et les Bartonnella.

Cette anémie proposée pour le dosage des produits antipernicieux par de nombreux auteurs n'est pas, d'après certains, sensible à l'action du foie. C'est à cette dernière opinion que se rangent Alsted, Vedder, Loureau, de Sacy, Arthus, Schabbel et Bareuther.

L'anémie à Bartonnella du rat n'aurait que des ressemblances superficielles avec l'anémie pernicieuse humaine.

Il en est de même de l'anémie pernicieuse du cheval due à un ultra-virus et dont même la symptomatologie est différente.

III. — *Animal sain et test d'activité.*

Ne trouvant pas d'anémies spontanées vraiment intéressantes, n'arrivant pas à en créer expérimentalement de plus pratiques pour l'étude des produits antianémiques, ne peut-on pas étudier ceux-ci en faisant appel à l'animal sain ?

Pour pouvoir étudier un produit antipernicieux, il faut être sûr qu'il ait une action sur la moelle osseuse.

En effet, le facteur antianémique secondaire n'agit que

sur l'hémoglobine, le facteur antipernicieux déclenchant par son action sur la moelle osseuse la production d'une érytropoïèse normale, c'est-à-dire augmentée en intensité et ramenée à la forme normoblastique.

Les extraits hépatiques ou gastriques ne sont pas strictement fabriqués pour les anémies de Biermer. S'il n'en était pas ainsi, cette branche de l'industrie pharmaceutique n'aurait pas connu l'importance qu'elle a atteint. On va donc chercher à obtenir un extrait ayant le facteur antipernicieux, toute la technique de la préparation ayant pour but d'obtenir un extrait qui en soit aussi riche que possible, mais il restera toujours une quantité importante de principe antianémique secondaire.

La crise réticulocytaire chez l'animal sain nous semble être un test d'efficacité correspondant à de telles conditions. Elle n'est pas spécifique, mais si l'extrait, à un moment donné de sa fabrication, ou lorsqu'il est terminé, n'était plus susceptible de la déclencher, on serait sûr que le principe antipernicieux a été soit détruit, soit éliminé. L'industriel aurait donc à rejeter une telle préparation, et, en essayant le produit aux différents stades de sa fabrication, il verrait le point défectueux de sa technique. On peut également objecter que cette méthode se pratique sur un animal non anémique. Nous pensons qu'il vaut mieux étudier un produit antipernicieux sur un animal sain que sur un animal présentant une anémie indiscutable, mais qui n'est souvent qu'un épiphénomène dans tout le désordre pathologique créé par la méthode d'expérience. On admet sans discussion le titrage de l'insuline sur des lapins normaux non dépancréatés. Tous les pharmacologistes sont d'accord pour reconnaître les résultats excellents.

L'étude de la crise réticulocytaire a été effectuée chez le lapin par Dedichen, en 1936, pour étudier les extraits hépatiques. Chez le cobaye, Landsberg et Thompson ont obtenu de bons résultats, si bien qu'ils ont proposé leur technique pour l'étalonnage des extraits. De nombreux auteurs

pensent au contraire qu'on ne peut pas tenir compte de leurs expériences.

Vaughan, Muller et Minot ont proposé l'emploi de pigeons pour l'étude de l'action des injections de foie ou d'estomac. Mais ici encore d'autres expérimentateurs pensent que les variations spontanées sont du même ordre de grandeur que l'effet suscité par l'extrait étudié.

Après Guebhart et Cario, Singer, Kamerling, Klaperzak, Fleis, Chacker, Barath, Rambert, nous pensons que le rat blanc est l'animal de choix pour l'étude de la crise réticulocytaire. C'est la seule méthode que nous ayons retenue pour l'étude des extraits hépatiques ou gastriques, et nous rapportons dans le chapitre suivant les résultats qu'elle nous a donnés.

La poussée leucocytaire qui suit l'injection des extraits hépatiques remarquée par Powers et Murphy chez l'homme sain a également été proposée comme test. Dedichen s'en est servi chez le porc pour étudier le produit isolé par Lalaud et Klem. Nous pensons avec Walbach que cette méthode, fort peu spécifique, n'est pas indiquée pour l'étude des extraits antianémiques, mais qu'elle a une très grande valeur pour d'autres titrages biologiques.

Pour terminer cette revue des différentes techniques proposées, nous ferons connaître la technique de Walbach d'après les recherches poursuivies par J.-P. Glaunès dans le laboratoire de Walbach à Leyde, en juillet 1939.

21 souris blanches des deux sexes ont été réparties en quatre lots, le quatrième comprenant 6 souris et servant de lot témoin.

Le même jour, on a injecté les trois premiers lots avec des dilutions d'extrait hépato-pyloro-gastrique différentes. Le premier lot a eu une injection intrapéritonéale de 1/10 de centimètre cube d'une solution d'extrait au 1/1.000. Le deuxième lot a eu une injection d'une même quantité, mais

d'une solution au 10/1.000; quant au troisième lot, il a subi 1/10 de centimètre cube d'une solution au 100/1.000.

Il est à remarquer que ces solutions sont à priori trop différentes les unes des autres et que, de ce fait, la méthode ne peut donner que des résultats approchés de 1 à 10.

Les injections intrapéritonéales sont assez délicates à réussir. Il faut évidemment éviter de léser l'intestin et les organes de l'animal en expérience.

Très exactement 24 heures après, on a procédé aux injections d'encre de Chine. Cette encre de Chine ne doit pas être quelconque, il faut être en effet très sûr de la finesse de ses grains, car, s'ils sont d'un diamètre considérable, la réaction est considérablement retardée. Walbach se sert d'une encre de Chine allemande, marque « Pélikan Ausziehlusche Gunther Wagner Hanovre et Vienne ». On a fait une dilution de cette encre de Chine en mettant quatre gouttes dans 5 cm^3 d'eau distillée. Les 21 souris ont subi une injection intraveineuse (veine marginale de la queue).

Cette technique, qui nous avait paru très compliquée, est au contraire assez facilement réalisable. Il suffit de prendre des aiguilles de 5/10 de millimètre de diamètre et de 3 centimètres de long. L'animal est enfermé dans une petite boîte de carton dans laquelle on a ménagé une échancrure pour que la queue puisse sortir à l'extérieur. On a soin d'avoir à côté de soi une casserole d'eau bouillante. La queue de l'animal est passée dans la vapeur émise par cette eau, ce qui crée une grosse vaso-dilatation momentanée. Il est très facile de voir l'encre de Chine suivre le trajet de la veine. On oblitère un moment en serrant la queue à l'endroit de la piqûre.

Deux heures après l'injection d'encre de Chine, les 21 souris ont été sacrifiées en les plaçant dans une atmosphère chloroformée. Chaque animal est délicatement autopsié. On prélève avec des ciseaux fins un fragment de foie et un fragment de rate, qui sont mis ensemble dans un petit flacon contenant du Carnoy.

La fixation du Carnoy dure une heure. Les fragments sont

passés deux fois dans de l'alcool absolu et chaque fois durant une heure.

Après le passage à l'alcool, les pièces sont portées dans un solvant de la paraffine. Walbach emprunte l'huile de cèdre. Il faut que les pièces séjournent au moins 6 heures dans l'huile de cèdre, mais elles peuvent y rester bien plus longtemps, et l'on peut attendre facilement jusqu'au lendemain pour faire les inclusions.

Les inclusions sont faites à la paraffine fondant à 56-58°. On emploie un seul bain et, en général, on met les blocs à refroidir au bout de 2 à 3 heures.

Les blocs sont ensuite coupés et les coupes montées sur lames, d'après la technique habituelle. La coloration des coupes se fait au carmin; pour cela on prépare :

5 g. d'alun de potasse;
1 g. de carmin pur;
100 g. d'eau distillée.

On met bouillir le tout pendant 15 minutes. On filtre et on ajoute quelques gouttes de formol pour que le colorant se conserve mieux.

Après déparaffinage des coupes, celles-ci sont colorées 30 minutes avec la solution ci-dessus et montées au baume du Canada. On examine les coupes avec un objectif × 7 à sec.

La technique est basée sur le fait d'expérience suivant : dans le foie, l'encre de Chine est absorbée par les cellules de Kupffer et particulièrement à la périphérie du lobule.

La rate fixe également de l'encre de Chine dans les cellules réticulo-endothéliales. Lorsque, préalablement à l'injection d'encre de Chine, l'animal a subi une injection d'extrait hépatique, Walbach a remarqué que si le foie continue toujours à fixer l'encre de Chine, la rate ne la fixe plus.

Partant de ce fait, il a essayé de comparer les différents extraits hépatiques en cherchant la dilution limite par laquelle le phénomène est encore visible.

Walbach considère que la réaction est positive si 3 animaux sur 5 n'ont pas fixé l'encre de Chine dans la rate.

Le lot 103-3 que nous avons examiné a donné les résultats suivants :

— pour la dilution au 1/1.000, toutes les rates montraient très peu d'encre de Chine alors que les foies de ces mêmes animaux placés sur la même préparation en montraient au contraire en grande abondance; c'était le cas-type de la réaction nettement positive;

— avec le deuxième lot, solution au 10/1.000, 3 animaux sur 5 avaient une réaction positive;

— pour le troisième lot, il en était exactement de même.

On n'avait donc pas atteint le seuil médicamenteux.

Une nouvelle série de recherches, en procédant de la même façon, permit de déterminer que les 6 animaux témoins montraient une parfaite identité de répartition de l'encre de Chine dans le foie et dans la rate.

Le lot 103-3 était donc, d'après l'expression Walbach, au moins positif à 0,00001.

La technique de Walbach est facilement réalisable quant à la partie purement expérimentale sur les animaux. Elle nécessite malheureusement la confection de coupes histologiques en assez grand nombre, il semble toutefois qu'un laboratoire organisé ne devrait pas trouver là un écueil pour cette technique. Nous pensons cependant que cette méthode aurait besoin de subir des variations notables.

1° Les dilutions sont trop éloignées les unes des autres; il faudrait, dans un premier temps, localiser en quelque sorte la réaction par des dilutions variant de 10 en 10; ensuite, dans cette zone du seuil, il faudrait des dilutions plus rapprochées.

2° L'examen des coupes histologiques et l'interprétation qui en résulte sont un peu laissées à l'arbitraire. On pourrait diminuer ce risque de subjectivité de la méthode en déterminant un fois pour toutes le nombre de cellules réticulo-endothéliales de la rate qui peuvent encore contenir du charbon.

Il suffirait, en effet, après une certaine habitude de la

méthode, de dire qu'une réaction est possible si la rate contient tout au plus une cellule réticulo-endothéliale pigmentaire dans un champ microscopique:

Nous pensons que la méthode de Walbach est fort intéressante non seulement pour les extraits de foie, mais pour les dosages d'extraits organothérapiques en général.

IV. — *Essai sur le biermérien.*

Si l'on se rangeait à l'opinion de Naegelli, qui fait strictement du principe antipernicieux un facteur permettant le retour de l'érythropoïèse mégaloblastique à l'érythropoïèse normoblastique, aucune méthode expérimentale n'aurait de valeur, et seul le biermérien pourrait être employé pour l'essai des produits opothérapiques antianémiques. Aux Etats-Unis, c'est cette façon de voir qui a prévalu, et le Council of Pharmacy and Chemistry a renoncé à tout essai sur l'animal.

Le biermérien ne doit présenter aucune affection autre que son anémie. Le nombre des hématies doit être compris entre 1 et 3 millions par millimètre cube et ne pas avoir de rémission spontanée. De plus, il ne doit pas avoir reçu de substance antianémique ni d'arsenic depuis un mois et eu de transfusion récente. C'est la crise réticulocytaire qui sert de test. Elle peut être recherchée de deux manières différentes.

Par *simple réponse réticulocytaire*, les réticulocytes étant comptés tous les jours et au moment de la crise maximale deux fois par jour. En se basant sur la loi de Minot et Murphy, il faut que la réponse réticulocytaire soit de 30 % si le taux initial des hématies est de 1.000.000 ou de 18, 12, 7, 4 % respectivement pour un nombre d'hématies initial de 1,5, 2, 3, 5 millions par millimètre cube.

Ces chiffres s'entendent pour une administration buccale journalière durant 10 jours de produit provenant de 300 à 400 g. de foie ou de doses 10 fois moindres d'estomac, ou pour une injection parentérale de substance obtenue en partant de 10 à 15 g. de foie; pour que l'extrait soit satisfai-

sant, il faut que ces résultats soient obtenus au moins sur 3 malades.

The U. S. Pharmacopeia Antianemia Preparations Advisory Board, qui a comme membre les fondateurs de l'opothérapie antianémique, n'admet plus depuis 1938 que les préparations antianémiques soient appréciées d'après la quantité d'organes dont elles sont extraites. Mais elles doivent porter leur titre exprimé en une unité qui est la plus petite quantité de substance qui, donnée journellement à un biermérien, produit une réponse hématopoïétique satisfaisante. Il distingue une unité par voie buccale et une unité injectable, en faisant remarquer qu'elles ne peuvent être transformées l'une dans l'autre.

La technique de la *double réponse réticulocytaire* a été préconisée par Dameshek et Castle, afin de pallier à la rareté des biermériens et au facteur individuel. A un biermérien présentant une rechute, on injecte quotidiennement, durant 10 jours, une dose suboptima d'un extrait étalon. La première réponse réticulocytaire notée, dans un second temps, on lui injecte dans les mêmes conditions le produit à l'étude. Si une deuxième poussée réticulocytaire a lieu, c'est que le second produit est plus actif que l'étalon; dans le cas contraire, une troisième série d'injections sera faite avec une dose augmentée. Les hauteurs des courbes obtenues en portant l'intensité de la réponse permettent d'apprécier comparativement les préparations entre elles.

Si ces méthodes donnent indiscutablement le plus de garanties, elles sont d'une réalisation fort difficile et ne peuvent pas être appliquées à l'industrie. Nous pensons cependant qu'il y a intérêt à les employer de temps en temps pour contrôler les résultats obtenus par un procédé plus pratique, que nous allons maintenant exposer.

CHAPITRE III

ETUDE DE L'EXTRAIT HEPATO-PYLORO-GASTRIQUE PAR LA CRISE RETICULOCYTAIRE DU RAT BLANC

I. — *La technique.*

En nous appuyant sur des expériences de différents auteurs qui s'étaient servis du test du rat blanc, et après en avoir minutieusement vérifié les différents points, nous avons fixé notre technique de la façon suivante :

Les animaux proviennent toujours d'un même élevage où il n'a jamais été signalé d'épidémie.

Les rats ont un poids moyen de 180 à 200 g. Le nombre des réticulocytes varie avec le poids et l'âge. Pour Engerbing, un rat de 35 à 50 g. a 147 ‰ réticulocytes; de 150 g., 87 ‰, et de 200 à 300 g., 43 ‰. Pour Orban, le taux moyen pour des rats de 170 à 200 g. serait de 40 à 55 ‰. Pour Singer, cette moyenne est de l'ordre de 15 ‰. Rambert, dans sa thèse, a trouvé pour 40 animaux des chiffres oscillant entre 13 et 36 ‰ avec un taux moyen de 24 ‰.

Sur les nombreuses numérations que nous avons faites, nous avons toujours trouvé une moyenne de 15 ‰. Nous pensons avec Singer qu'il faut rejeter des animaux qui dépasseraient un tel chiffre, et soupçonner dans ces élevages une anémie à Bartonnella.

Le régime doit être établi d'une façon précise et ne plus varier, car il influence le taux des réticulocytes, comme l'avaient déjà signalé Engerbing et Overbeck. Nous em-

ployons une ration alimentaire constante et surveillée, par exemple :

Eau à discrétion;
20 g. de pain humecté de lait cru;
Verdure ou légume cru.
Tout ou partie du pain peut être remplacé par des graines.

Les animaux sont accoutumés au local d'expérience et y restent pendant un mois groupés. Ils sont ensuite isolés dans des cages individuelles de façon à éviter toute bataille pouvant entraîner des hémorragies et de ce fait fausser l'expérience. Ils sont tenus en parfait état de propreté, les restes de nourriture enlevés chaque jour, ainsi que la couche constituée par de la ouate ou de la fibre fine.

Période d'observation :

Ainsi isolé, l'animal reste en observation et subit trois examens successifs du sang pour le décompte du taux des réticulocytes, pratiqués à 3 jours d'intervalle. Le prélèvement est effectué le matin sur l'animal à jeun. Par piqûre de la queue, on obtient une goutte de sang qui sert à l'étalement du frottis. A la fin de cette période d'observation sont éliminés les animaux ayant présenté des signes de maladie, tous ceux dont le nombre des réticulocytes pour la moyenne de ces trois examens est supérieur à 15 ‰, tous ceux qui, quoique au-dessus de ce chiffre, ont présenté des écarts supérieurs à 50 % du taux moyen.

L'expérimentation porte sur des lots de 5 animaux. On ne tient compte que de la moyenne du lot de façon à éviter le facteur individuel.

L'injection est intramusculaire dans la face interne de la cuisse. On ne peut guère injecter plus de 1/4 de cm^3 sans causer de véritables traumatismes, étant donné le calibre

des membres inférieurs des rats. Un aide tient l'animal : entre le pouce et l'index de la main droite il saisit le rat derrière la tête, et, le renversant sur le dos, il prend de la main gauche une patte postérieure. Il doit tendre le corps de l'animal le plus possible. La patte postérieure restée libre est tenue de la main gauche par l'opérateur, qui, après avoir désinfecté l'endroit de la piqûre, fait l'injection intramusculaire.

Le troisième jour après la piqûre, le premier prélèvement était effectué, et quatre autres se succédèrent à 3 jours d'intervalle.

La technique des examens était la suivante : à chaque prélèvement, 2 frottis étaient effectués pour un animal, ceci sur des lames bien dégraissées. Il faut qu'ils soient homogènes et légers. Nous insisterons ici tout particulièrement sur la nécessité de soigner leur obtention, car, s'il n'en était par ainsi, il ne serait guère possible d'effectuer la numération des réticulocytes.

Les lames portant le numéro de l'animal sont rapidement séchées par une vive agitation et conservées dans une boîte à rainures, de façon à être à l'abri des poussières. L'examen doit être effectué dans les trois ou quatre jours suivants.

Sur le frottis non fixé, on renverse une lamelle chargée préalablement d'une goutte de solution de bleu de méthylène à 1/500, selon la méthode de Sabrazès. On examine à l'aide d'un objectif à immersion à 1/15 et dont l'oculaire à champ carré est d'ouverture réglable et d'un grossissement × 10. La préparation, d'abord parcourue pour voir si elle est bien homogène, on choisit une zone assez claire, on met au point sur un réticulocyte et l'on règle le champ de façon à ce qu'il contienne une centaine d'hématies. On note le nombre d'hématies granulo-réticulo-filamenteuses contenues dans le champ, on effectue ainsi neuf autres numérations, la somme des dix chiffres obtenus donne le nombre des réticulocytes pour 1.000 hématies.

II. — *Les résultats.*

Nous rapportons ici simplement deux séries d'expériences. *La première série* comporte 15 animaux dont le poids moyen pendant la période d'observation est passé de 182 à 186 g. Durant cette période, les chiffres moyens des réticulocytes sont restés sensiblement constants, passant par les valeurs de 18,5, 20 et 19 ‰. Les traitements effectués sont résumés dans le tableau suivant :

N° DES RATS	101	102	103	104	105	106	107	155	156	158	169	170	172	173	174
Nov.															
24.....	1	1	1	1	1	1/2	1/2	1/2	1/2	1/2	1/4	1/4	1/4	1/4	1/4
25.....	—	1	1	1	1	1/2	1/2	1/2	1/2	—	1/4	1/4	1/4	—	1/4
26.....	—	1	1	1	1	1/2	1/2	1/2	1/2	—	1/4	1/4	1/4	—	1/4
27.....	—	—	1	1	—	—	1/2	1/2	—	—	1/4	—	1/4		
28.....	—	—	1	1	—	—	1/2	1/2	—	—	1/4	—	1/4		

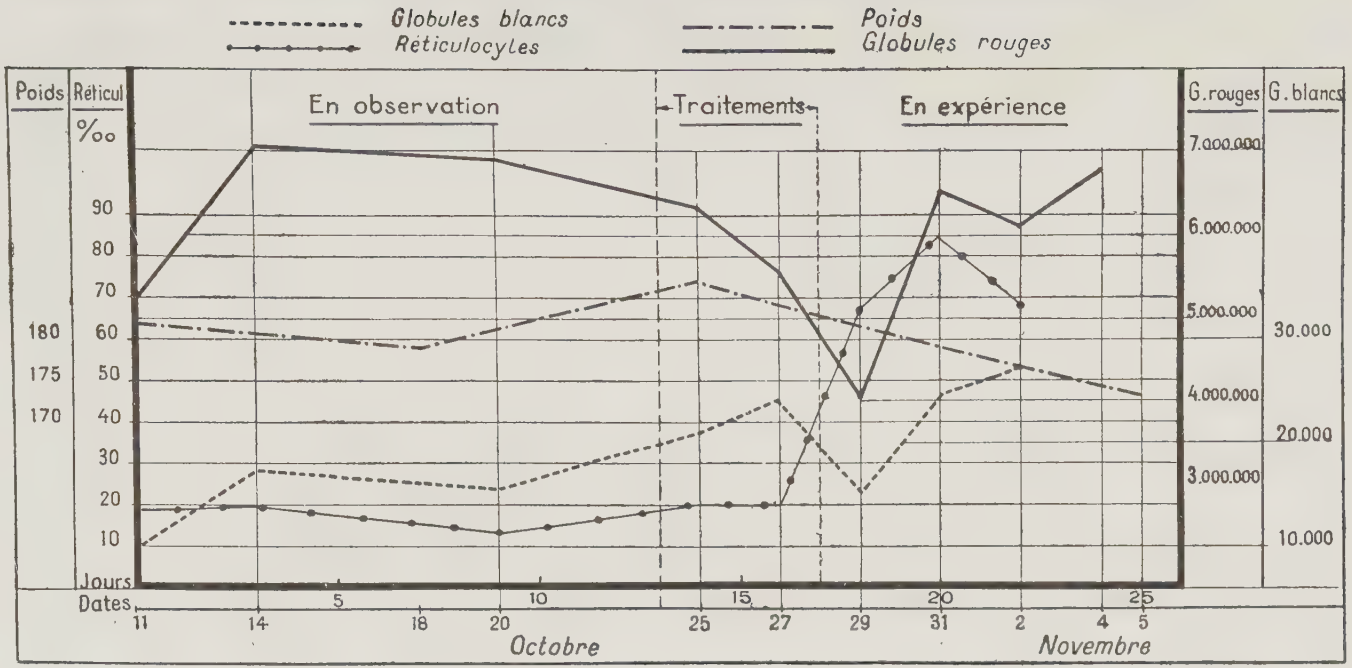
Les graphiques joints ont été établis d'après les chiffres moyens des 15 animaux, tant pendant la période d'observation que pendant celle de l'expérience.

Il est visible que les traitements ont nettement modifié l'allure générale des courbes.

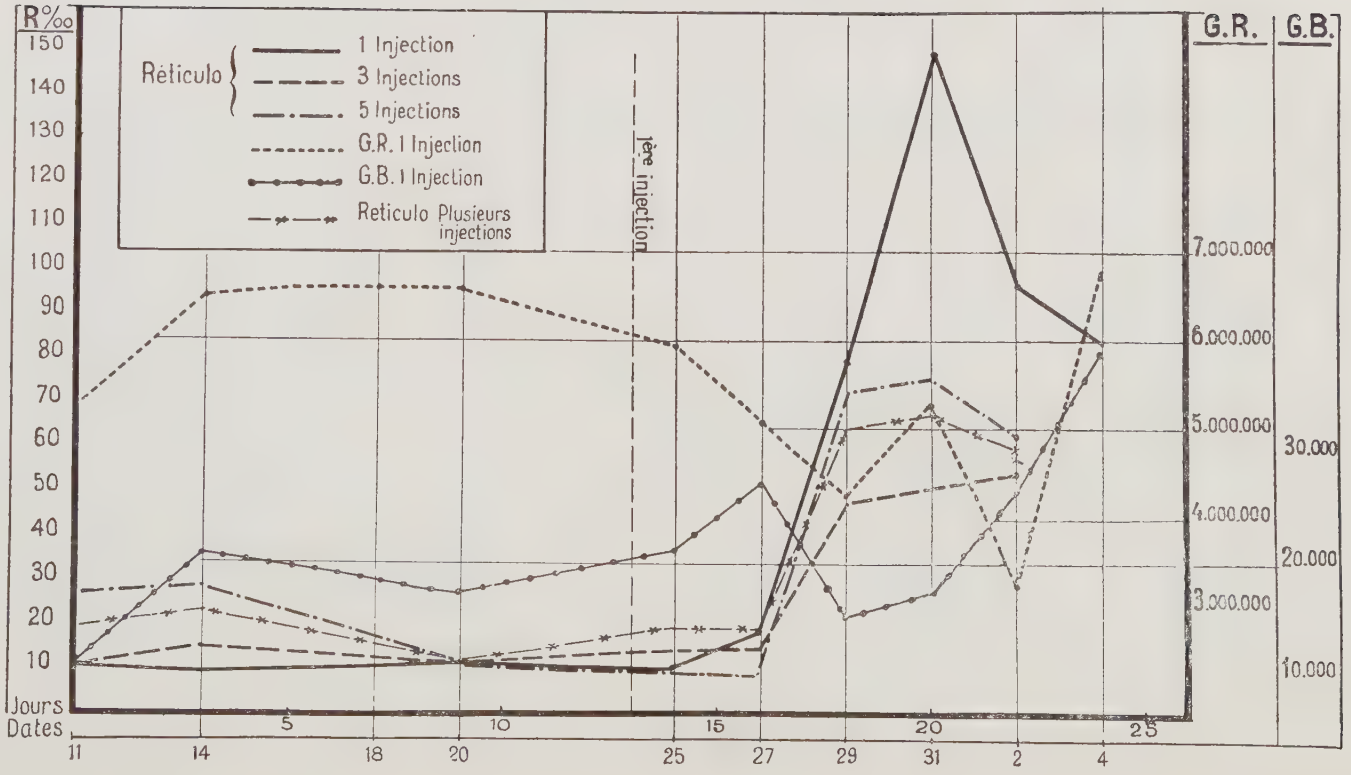
Poids. — Il semblerait que les injections de dose disproportionnée au poids des sujets soient la cause d'un amaigrissement.

Numérations globulaires. — Les courbes ont été établies tant pour les globules rouges que pour les globules blancs. Pour l'interprétation de celle des globules rouges, on voit une diminution dès l'institution du traitement; puis la courbe remonte, pour dépasser son point de départ. Quant aux globules blancs, l'influence du traitement : injection d'une quantité considérable de substances étrangères, quoique désalbuminées, les fait passer de 20.000 à 36.000. Sans attacher de valeur absolue à ces chiffres, le sens hyperleucocytose est net, ce qui est parfaitement logique.

Graphiques des moyennes.



Graphiques des moyennes.



Réticulocytes. — Les tableaux joints donnent, par dates, en pour cent, les réticulocytes décomptées et les injections en centimètres cubes qui ont été faites.

La courbe générale enregistre comme conséquence du traitement, après un délai de 3 jours, une *crise réticulocytaire* typique, puisque la moyenne passe de 20 à 85 ‰ du troisième au septième jour.

Etude de la crise réticulocytaire en fonction du traitement.

L'allure de l'évolution de cette crise nous a semblé assez inattendue; nous avons donc procédé à une analyse plus poussée.

Toutes les injections représentaient des doses massives par rapport au poids des animaux, ce qui permet d'assimiler les résultats obtenus avec 1/4, 1/2 ou 1 cm³. Nous avons étudié les résultats en fonction du nombre de piqûres.

Les graphiques des crises réticulocytaires ont été établis pour les moyennes des animaux ayant subi 1, 3 ou 5 injections. Nous avons également fait figurer la moyenne des animaux ayant subi plusieurs injections.

Modifications de la réticulocytose sur des rats normaux, par 1 cm³ d'extrait hépato-pyloro-gastrique.

DATES	RAT N° 103		RAT N° 104		RAT N° 102		RAT N° 105		RAT N° 101	
	E. (1)	R. (2)	E.	R.	E.	R.	E.	R.	E.	R.
	cm³		cm³		cm³		cm³		cm³	
11	—	2,5	—	2,1	—	1,1	—	0,9	—	1,3
14	—	1,5	—	1,2	—	1,4	—	1,8	—	0,7
20	—	2,5	—	2,2	—	0,7	—	1,1	—	1,0
24	1	—	1	—	1	—	1	—	1	—
25	1	2,9	1	0,9	1	2,5	1	0,8	—	1,1
26	1	—	1	—	1	—	1	—	—	—
27	1	2,1	1	1,6	—	1,5	—	0,8	—	2,4
28	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—
29	—	11,2	—	1,9	—	6,8	—	6,0	—	7,4
31	—	7,8	—	1,2	—	5,0	—	6,3	—	11,9
2	—	5,6	—	2,0	—	4,4	—	4,8	—	7,9
4	—	7,6	—	3,0	—	1,1	—	8,1	—	9,9
Totaux des injections.	5		5		3		3		1	

(1) E. = Extrait hépato-pyloro-gastrique. (2) R. = Réticulocytes.
Les réticulocytes sont exprimés en % (pour cent).

Modifications de la réticulocytose sur des rats normaux, par 1/2 cm³ d'extrait hépato-pyloro-gastrique.

DATES	RAT N° 107		RAT N° 155		RAT N° 106		RAT N° 156		RAT N° 158	
	E. (1)	R. (2)	E.	R.	E.	R.	E.	R.	E.	R.
	cm³		cm³		cm³		cm³		cm³	
11	—	3,2	—	2,0	—	1 1	—	1,1	—	1,5
14	—	3,2	—	3,1	—	1,1	—	1,0	—	2,1
18	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	—	2,0	—	0,8	—	1,3	—	0,1	—	0,6
24	1/2	—	1/2	—	1/2	—	1/2	—	1/2	—
25	1/2	1,2	1/2	2,5	1/2	2,1	1/2	1,3	—	1,2
26	1/2	—	1/2	—	1/2	—	1/2	—	—	—
27	1/2	1,0	1/2	1,3	—	1,7	—	1,5	—	1,2
28	1/2	—	1/2	—	—	—	—	—	—	—
29	—	12,3	—	6,2	—	1,3	—	5,1	—	8,2
31	—	21,1	—	3,0	—	2,7	—	6,9	—	9,6
2	—	12,0	—	3,1	—	3,2	—	8,1	—	9,6
4	—	16,0	—	7,1	—	10,2	—	7,2	—	8,2
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Totaux des injections	2 1/2		2 1/2		1 1/2		1 1/2		1/2	

(1) E. = Extrait hépato-pyloro-gastrique. (2) R. = Réticulocytes.
Les réticulocytes sont exprimés en % (pour cent).

Modifications de la réticulocytose sur des rats normaux, par 1/4 de cm³ d'extrait hépato-pyloro-gastrique.

DATES	RAT N° 169		RAT N° 172		RAT N° 170		RAT N° 174		RAT N° 173	
	E. (1)	R. (2)	E.	R.	E.	R.	E.	R.	E.	R.
	cm³		cm³		cm³		cm³		cm³	
11	—	4 4	—	2,7	—	1,3	—	1,1	—	0,9
14	—	5,3	—	2,6	—	1,7	—	2.2	—	0,8
18	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	—	1,7	—	1,5	—	1,1	—	0,8	—	2,2
24	1/4	—	1/4	—	1/4	—	1/4	—	1/4	—
25	1/4	4,4	1/4	2,1	1/4	2,4	1/4	1,4	—	1,7
26	1 4	—	1/4	—	1/4	—	1/4	—	—	—
27	1/4	4,9	1/4	1,0	—	4,0	—	2,6	—	1,7
28	1/4	—	1/4	—	—	—	—	—	—	—
29	—	7,6	—	10,3	—	5,0	—	1,6	—	8,4
31	—	9,2	—	9,5	—	7,4	—	3,1	—	22,9
2	—	8,9	—	7,4	—	5,8	—	—	—	11,7
4	—	8,2	—	12,8	—	6,6	—	9,4	—	8,6
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Totaux des injections	1 1/4		1 1/4		3/4		3/4		1/4	

(1) E. = Extrait hépato-pyloro-gastrique. (2) R. = Réticulocytes.
Les réticulocytes sont exprimés en % (pour cent).

a) Une injection. — La crise réticulocytaire est représentée par un clocher aigu obtenu le septième jour après la piqûre; l'ascension commence le troisième jour à 18, passant le cinquième à 80; atteint 148 le septième. La descente passe le neuvième par 97 pour atteindre 89 le onzième jour (‰).

b) Injections successives. — Le caractère de la réponse est différent. Elle est moins aiguë et rappellerait le phénomène des réponses multiples de Minot et Castle.

La deuxième série comportant également 15 animaux répartis en trois lots de 5 :

le premier lot ayant 1 cm^3 d'extrait hépato-pylorogastrique;
le deuxième lot ayant 1/2 cm^3;
le troisième lot ayant 1/4 de cm^3.

Mais, dans chaque lot, 3 ont eu des injections quotidiennes; les 2 autres n'ont reçu qu'une seule fois la dose médicamenteuse affectée au lot.

Les résultats sont consignés dans les trois tableaux ci-après.

Action de l'extrait hépato-pyloro-gastrique sur la réticulocytose chez des rats blancs.

Un centimètre cube.

DATES	RAT N° 50		RAT N° 51		RAT N° 54		RAT N° 55		RAT N° 56	
	E. (1)	R. (2)	E.	R.	E.	R.	E.	R.	E.	R.
	cm³		cm³		cm³		cm³		cm³	
10	—	0.2	—	1.8	—	1.8	—	1.0	—	1.5
11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12	—	0.4	—	2.0	—	1.5	—	0.8	—	1.6
13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17	—	0.4	—	2.1	—	1.6	—	1.2	—	1.4
18	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19	—	0.5	—	2.4	—	2.0	—	1.0	—	2.0
20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
21	—	0,2	—	1.8	—	1.8	—	1.5	—	2.0
22	1	—	1	—	1	—	1	—	1	—
23	1	—	1	—	1	—	—	—	—	—
24	1	0.4	1	2.0	1	2.4	—	1.5	—	1.0
25	1	0.8	1	2.5	1	1.8	—	2.0	—	0.8
26	1	2.0	1	2.8	1	3.0	—	2.5	—	2.8
27	1	2.5	1	3.0	1	3.8	—	3.0	—	3.0
28	1	3.0	1	3.8	1	5.0	—	4.2	—	3.8
29	1	3.9	1	5.0	1	5.0	—	4.3	—	4.0
30	1	—	1	—	1	—	—	—	—	—
31	1	2.8	1	5.0	1	4.8	—	4.7	—	4.0
2	—	2.5		5.2	—	5.0	—	4.0	—	4.2
3		2.2		4.5	—	4.2	—	4.9	—	3.8
TOTAUX des injections	10		10		10		1		1	

(1) E. = Extrait hépato-pyloro-gastrique. (2) R. = Réticulocytes.

Les réticulocytes sont exprimés en % (pour cent).

Action de l'extrait hépato-pyloro-gastrique sur la réticulocytose chez des rats blancs.

Un demi-centimètre cube.

DATES	RAT N° 57		RAT N° 61		RAT N° 62		RAT N° 63		RAT N° 67	
	E. (1)	R. (2)	E.	R.	E.	R.	E.	R.	E.	R.
	cm³		cm³		cm³		cm³		cm³	
10	—	0,3	—	0,8	—	—	—	—	—	—
11	—	—	—	—	—	2,2	—	0,7	—	0,5
12	—	0,7	—	1,1	—	—	—	—	—	—
13	—	—	—	—	—	2,5	—	1,1	—	1,0
17	—	0,6	—	1,0	—	2.0	—	—	—	—
18	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19	—	1.0	—	1.6	—	2,7	—	—	—	—
20	—	—	—	—	—	—	—	1,3	—	1,2
21	—	0,5	—	0,9	—	2,0	—	1,5	—	0,8
22	1/2	—	1/2	—	1/2	—	1/2	—	1/2	—
23	1/2	—	1/2	—	1/2	—	—	—	—	—
24	1/2	1,2	1/2	1,0	1/2	2,5	—	0,8	—	0,8
25	1/2	0.9	1/2	1,5	1/2	2.5	—	1,3	—	1,4
26	1/2	3.0	1/2	1,5	1/2	4,0	—	2.2	—	2,5
27	1/2	2.5	1/2	1,0	1/2	4.5	—	3.0	—	2.5
28	1/2	3.2	1/2	1,8	1/2	6.0	—	2.8	—	2.5
29	1/2	3.5	1/2	1,5	1/2	5,0	—	2.5	—	2.0
30	1/2	—	1/2	—	1/2	—	—	—	—	—
31	1/2	3,2	1/2	1,3	1/2	5,2	—	2,4	—	1,8
2	—	3,0	—	1,5	—	4.7	—	2,7	—	1,8
3	—	2,4	—	1,2	—	4,0	—	2,1	—	1,4
TOTAUX des injections	5		5		5		1/2		1/2	

(1) E. = Extrait hépato-pyloro-gastrique. (2) R. = Réticulocytes.

Les réticulocytes sont exprimés en % (pour cent).

Action de l'extrait hépato-pyloro-gastrique sur la réticulocytose chez des rats blancs.

Un quart de centimètre cube.

DATES	RAT N° 68		RAT N° 69		RAT N° 71		RAT N° 74		RAT N° 75	
	E. (1)	R. (2)	E.	R.	E.	R.	E.	R.	E.	R.
	cm3		cm3		cm3		cm3		cm3	
10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	—	1,2	—	2,0	—	0.6	—	1.4	—	1,8
12.....	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13	—	1,5	—	1,8	—	0.8	—	0.9	—	1,0
17	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18	—	1,0	—	2.1	—	0.8	—	1.2	—	1,4
19	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	—	1,5	—	2.2	—	1 0	—	1.5	—	1,4
21.....	—	1,6	—	1.7	—	0.8	—	1.0	—	0,9
22	1/4	—	1/4	—	1/4	—	1/4	—	1/4	—
23	1/4	—	1/4	—	1/4	—	—	—	—	—
24	1/4	1,5	1/4	2.0	1/4	1.0	—	1.5	—	1,8
25.....	1/4	0,9	1/4	1.8	1/4	1.3	—	1.5	—	1,5
26	1/4	1 8	1/4	2.6	1/4	2.0	—	3.0	—	2,7
27	1/4	1,8	1/4	2.8	1/4	2.2	—	3.9	—	2,8
28.....	1/4	1,6	1/4	3.4	1/4	3.0	—	5.2	—	2,6
29	1/4	1,6	1/4	4,6	1/4	2.8	—	4.7	—	3.0
30.....	1/4	—	1/4	—	1/4	—	—	—	—	—
31	1/4	1,5	1/4	4.1	1/4	2.5	—	4.2	—	2,8
2	—	1.6	—	3.5	—	2.6	—	3.0	—	2,1
3.....	—	1.2	—	2.7	—	2.0	—	1.8	—	1,6
Totaux des injections.	2 1/2		2 1/2		2 1/2		1/4		1/4	

(1) E. = Extrait hépato-pyloro-gastrique. (2) R. = Réticulocytes.

Les réticulocytes sont exprimés en % (pour cent).

Nous avons établi, après ces deux séries, des tableaux conçus comme ceux de Rambert. Les nombres des réticulocytes sont exprimés en pour 1.000 et classés en deux catégories : avant et après les injections médicamenteuses, permettant ainsi de dégager d'une façon nette les modifications réticulocytaires spontanées de celles effectivement provoquées. Les réticulocytoses les plus basses sont soulignées et les gains sont inscrits dans la colonne du jour où le maximum a été obtenu.

A. — R. R. R.[1] avec 1/4 de cm³.

Extrait hépato-pyloro-gastrique.

Tableau n° I.

N° des RATS	— 9	— 7	— 5	— 3	— 1	Injections	+ 3	+ 5	+ 7	+ 9	+ 12
74	14	9	12	15	10	1/4 cm³	15	30	52	42	18
75	18	10	14	14	9	une fois	18	27	26	28	16
Interprétation											
74		9					+	+	+ 48	+	+
75					9		+	+	+	+ 19	+

Tableau n° II.

N° des RATS	— 12	— 9	— 3	Injections	+ 1	+ 3	+ 5	+ 7	+ 9	+ 11
173	9	8	22	1/4 cm³ une fois	17	17	84	239	117	86
Interprétation										
173		8			+	+	+	221	+	+

Tableau n° III.

N° des RATS	— 12	— 9	— 3	Injections	+ 1	+ 3	+ 5	+ 7	+ 9	+ 11
170	12	17	11	1/4 cm³	24	40	50	74	58	66
174	11	22	8	pendant 3 jours	14	26	16	31		94
Interprétation										
170			11		+	+	+	+ 64	+	+
174			8		+	+	+	+	+	+ 113

(1) R. R. R. = Réaction réticulocytaire des rats.

TABLEAU N° IV.

N° des RATS	— 11	— 9	— 3	Injections	+ 1	+ 3	+ 5	+ 7	+ 9	+ 11
169	44	53	17	1/4 cm³	44	49	76	92	89	93
172	27	26	15	pendant 5 jours	21	10	103	95	34	128
				Interprétation						
169			17		+	+	+	+ 75	+	+
172			15		+	—	+	+	+	+ 113

TABLEAU N° V.

N° des RATS	— 9	— 7	— 5	— 3	— 1	Injections	+ 3	+ 5	+ 7	+ 9	+ 12
68	12	15	10	15	16	1/4 cm³	9	18	16	15	12
69	20	18	21	22	17	pendant	18	28	46	42	27
71	6	8	8	10	8	10 jours	13	22	28	25	20
					—						
						Interprétation					
68			10				—	+ 8	+	+	+
69					17		+	+	+ 29	+	+
71	6						+	+	+ 22	+	+

B — R. R. R. avec 1/2 cm³. Extrait hépato-pyloro-gastrique.

TABLEAU N° VI.

N° des RATS	— 9	— 7	— 7	— 3	— 1	Injections	+ 3	+ 5	+ 7	+ 9	+ 12
63	7	11	8	13	15	1/2 cm³	13	30	25	24	21
67	5	10	10	12	8	une fois	14	35	20	19	14
						Interprétation					
63	7						+	+ 23	+	+	+
67	5						+	+ 20	+	+	+

Tableau n° VII.

N° des RATS.	— 12	— 9	— 3	Injections	+ 1	+ 3	+ 5	+ 7	+ 9	+ 22
158	15	21	6	1/2 cm³ une fois	12	12	82	96	96	82
				Interprétation						
158			6		+	+	+	+ 90	+	+

Tableau n° VIII.

N° des RATS	— 12	— 9	— 2	INJECTIONS	+ 1	+ 3	+ 5	+ 7	+ 9	+ 13
106 156	14 14	14 10	13 4	½ cm³ pendant 3 jours.	21 13	17 15	43 51	27 69	32 81	102 72
				Interprétation						
106 156			13 4		+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ 89 + 88

Tableau n° IX.

N° des RATS	— 12	— 9	— 3	INJECTIONS	+ 1	+ 3	+ 5	+ 7	+ 9	+ 12
107 156	32 20	32 15	20 8	½ cm³ pendant 5 jours.	12 25	10 13	124 62	211 30	130 31	160 71
				Interprétation						
107 158			20 8		— +	— +	+ +	+ 191 +	+ +	+ + 63

Tableau n° X.

N° des RATS	— 9	— 7	— 5	— 3	— 1	INJECTIONS	+ 3	+ 5	+ 7	+ 9	+ 12
57 61 62	3 8 22	7 11 25	6 10 20	10 16 27	75 9 20	½ cm³ pendant 10 jours.	9 15 25	25 10 15	35 15 50	32 13 52	24 12 40
						Interprétation					
57 61 62							+ + +	+ + +	+ 32 + 7 +	+ + + 32	+ + +

C. — R. R. R. avec 1 cm³. Extrait hépato-pyloro-gastrique.

Tableau n° XI.

N° des RATS	— 9	— 7	— 5	— 3	— 1	INJECTIONS	+ 3	+ 5	+ 7	+ 10	+ 12
55	10	8	12	10	15	1 cm³	15	25	43	47	40
56	15	16	14	20	20	une fois.	10	28	28	40	42
Interprétation											
55		8					+	+	+	+ 59	+
56			14				—	+	+	+	+ 28

Tableau n° XII.

N° des RATS	— 12	— 9	— 3	INJECTIONS	+ 1	+ 3	+ 5	+ 7	+ 9	+ 12
101	12	7	10	1 cm³	11	24	74	119	79	39
				une fois.						
Interprétation										
101		7	20		+	+	+	+ 112	+	+

Tableau n° XIII.

N° des RATS	— 12	— 6	— 3	INJECTIONS	+ 1	+ 2	+ 5	+ 7	+ 9	+ 11
102	11	14	7	3 cm³	25	15	68	50	44	11
105	9	19	11	du 24 au 26	8	8	60	63	48	81
Interprétation										
102					+	+	+ 61	+	+	+
105					—	—	+	+	+	+ 72

Tableau n° XIV.

N° des RATS	— 12	— 9	— 3	INJECTIONS	3+ 1	+ 3	+ 5	+ 7	+ 9	+ 11
103	25	15	35	5 cm³	29	21	112	78	56	76
104	21	12	22	du 24 au 28	9	16	19	12	20	30
Interprétation										
103					+	+	+ 97	+	+	+
104					—	+	+	0	+	+ 18

Tableau n° XV.

N° des RATS	— 9	— 9	— 5	— 3	— 1	INJECTIONS	+ 3	+ 5	+ 7	+ 10	+ 13
50	2	4	5	5	2	1 cm³	4	20	30	28	22
51	18	2	21	24	10	pendant	20	28	38	50	44
54	18	15	16	20	18	10 jours	24	30	50	48	42
						Interprétation					
50							+	+	+ 28	+	+
51							+	+	+	+ 48	+
54							+	+	+ 35	+	+

Avant toute injection médicamenteuse, nous avons fait 120 numérations qui nous ont permis de constater les résultats suivants :

A. — Sur la totalité des numérations réticulocytaires :

a) 975 réticulocytes; 15 rats; 5 numérations par rat.

$$\text{Moyenne} : \frac{975}{75} = 13\ ‰.$$

b) 772 réticulocytes; 15 rats; 3 numérations par rat.

$$\text{Moyenne} : \frac{772}{45} = 17\ ‰.$$

$$\text{Moyenne générale} : \frac{13 + 17}{2} = 15\ ‰.$$

B. — Sur les minima des numérations réticulocytaires :

$$\frac{9{,}1 + 9{,}4 + 11}{3} = \frac{27{,}5}{3} = 9{,}1\ ‰.$$

C. — Après les injections d'extrait hépato-pyloro-gastrique, toutes doses (1 cm³, 3 cm³, 5 cm³, 10 cm³), nous avons obtenu les maxima de réticulocytes entre le 6e et le 9e jour consécutifs au début des injections, toujours sur 30 rats blancs.

Avec ces maxima, nous avons obtenu une moyenne de :

$$\frac{52{,}9 + 64{,}7 + 71{,}6}{3} = \frac{189{,}2}{3} = 63\ ‰.$$

Rambert, par convention, compte les augmentations des réticulocytes sur le chiffre le plus bas constaté avant injection.

Alors que Klaperzak estime la réaction positive si 2 rats sur 3 ont réagi, l'élévation des réticulocytes étant de l'ordre de 17 à 18 ‰, tous nos rats ont réagi, présentant une augmentation moyenne de :

$$63 - 9{,}1 = 53{,}9 \text{ ‰},$$

ce qui correspond à une augmentation de 592,3 % du taux initial des réticulocytes.

Ces deux séries de recherches nous prouvaient que l'extrait hépato-gastro-pylorique contenait bien le principe antipernicieux. L'essai sur le biermérien confirma ce résultat.

III. — *Les possibilités.*

Les différents auteurs ont toujours accordé au test de la R. R. R. une valeur indéniable, mais ils ne lui attribuent presque toujours qu'un intérêt qualitatif. Cheymol, dans une monographie toute récente, où il passe en revue les différents tests proposés, arrive également à cette conclusion, n'accordant de crédit au point de vue quantitatif qu'à l'anémie au plomb et à l'anémie saponine-collargol.

Nous ne nous rangeons pas à cette façon de voir, ceci pour des raisons théoriques aussi bien que pour des raisons expérimentales basées sur les recherches que nous avons pu faire.

La crise réticulocytaire du rat blanc est la preuve tangible que la moelle osseuse a réagi sous l'effet de l'injection du produit étudié. L'hématie granulo-réticulo-filamenteuse, comme l'a appelée notre Maître M. le Professeur Sabrazès, est en effet une hématie immature déversée prématurément dans le sang circulant d'une façon bien plus abondante que normalement. Cette crise est aussi appelée *réponse réticulocytaire*, pour souligner la relation de cause à effet existant entre l'injection et l'augmentation des réticulocytes.

En se basant sur la simple logique, il est facile d'admettre que :

1° *L'intensité de la réponse dépend de l'importance de l'excitation.* L'intensité de la crise réticulocytaire dépendra de la quantité de principe antipernicieux contenu dans le liquide ingéré ou injecté.

Partant de cette donnée, Dameshek et Castle ont proposé la « double réponse réticulocytaire » du biermérien, d'après laquelle le rapport des hauteurs des courbes permet d'apprécier comparativement les préparations. De nombreux expérimentateurs ont suivi cette méthode; Heath Barthes et Miller ont pu établir ainsi la valeur réciproque des différentes présentations d'un produit antianémique.

Mais si la réponse réticulocytaire dépend bien de la quantité de principe antipernicieux, son intensité est plus ou moins grande selon le taux initial d'hématies au moment du traitement du biermérien. Cette loi de Minot et Murphy n'est jamais en défaut. Pour éliminer cette cause d'erreur, il faudrait donc avoir des biermériens n'ayant jamais été traités et ayant le même nombre de globules rouges, conditions pratiquement irréalisables.

En étudiant les extraits par la crise réticulocytaire du rat blanc, on évite cet ennui. En effet, on part toujours avec un nombre d'hématies et un pourcentage de réticulocytes pratiquement constants.

Dans une série d'expériences, nous nous sommes assurés que l'intensité de la crise réticulocytaire et la quantité de principe antipernicieux injecté chez le rat blanc suivaient les mêmes variations. En traçant deux courbes, l'une correspondant aux quantités du produit, l'autre aux intensités de la réponse réticulocytaire, on voit que les deux graphiques ont la même allure. Mais on est loin d'obtenir deux tracés superposables.

2° *Pour qu'il y ait une réponse, il faut que l'excitation ait une certaine valeur.* Il faut une dose suffisante de principe

antipernicieux pour que l'activité de la moelle osseuse soit stimulée. La notion de seuil à atteindre est évidente.

La clinique l'a abondamment démontré d'ailleurs. Aubertin, en 1938, écrivait, au sujet de la crise réticulocytaire : « Elle n'est déclenchée que lorsque la « dose suffisante » de foie a été atteinte; tel malade à qui on a donné pendant quinze jours 200 g. de foie n'a pas présenté de poussée de réticulocytes : qu'on porte la dose à 400 g., ou même à 300 g. par jour, et l'on pourra voir brusquement en quelques jours la poussée se produire. Ce fait est intéressant, car il montre que souvent l'hépato-résistance n'est qu'apparente et qu'il s'agissait seulement d'une dose insuffisante. »

Ici interviennent les variations individuelles. Pour tel malade, on aura un seuil à 200 g. de foie, pour un autre à 300 g. Ce seuil est souvent différent chez un même malade; s'il a déjà été traité il aura besoin de doses plus fortes.

Par la méthode de la crise réticulocytaire du rat blanc, nous éliminons les variations individuelles en ne tenant compte que de la moyenne des réactions d'un lot de 5 animaux. Ces rats ne sont utilisés qu'une seule fois pour ce genre de recherches. Nous nous étions rendu compte, bien souvent, qu'il fallait chez le rat une certaine quantité d'extrait pour avoir une réponse positive.

Nous basant sur ce qui précède, nous avons procédé de la façon suivante en vue d'étalonner les produits antianémiques et l'extrait hépato-pyloro-gastrique en particulier.

Nous possédions une préparation d'extrait qui avait donné d'excellents résultats cliniques, résultats obtenus dans le service respectif des maîtres de l'hématologie française. Partout, on avait obtenu satisfaction en traitant des biermériens par une injection quotidienne de x centimètres cubes. Le diagnostic d'anémie de Biermer avait été sérieusement établi après de minutieux examens de sang et de moelle sternale. Nous appellerons cette préparation l'extrait A.

L'injection unique chez le rat blanc, dans les conditions

expérimentales que nous avons rapportées par ailleurs, donnait une forte réponse réticulocytaire. Voulant garder dans nos expériences une même quantité à injecter, nous avons dilué l'extrait A. En essayant les différentes solutions, nous avons cherché à savoir quelle était la dilution qui contenait dans un quart de centimètre cube l'*unité-rat*.

Cette unité était définie comme correspondant à la *quantité de principes antipernicieux qui, dans des conditions expérimentales rigoureuses, donnait une réponse réticulocytaire d'une amplitude donnée*. La hauteur de la courbe devait être fixée assez bas puisqu'elle exprime une unité, donc une plus petite quantité possible. Quoique ayant considérablement diminué le risque de variations spontanées, nous avons pensé que, pour plus de sécurité, il fallait à cette hauteur une certaine importance. Nous nous sommes arrêtés à une amplitude de 30 ‰.

Il nous était alors possible de dire que pour soigner un biermérien il fallait n unités-rats par jour.

Si nous appelons t l'inverse du titre de la solution qui correspond à l'unité par 1/4 de centimètre cube, n est défini par la relation :

$$n = x \times 4 \times t.$$

L'extrait A ainsi défini, il fallait pouvoir obtenir un extrait B identique, et, d'une façon générale, amener tous les lots de fabrication au même titre. Ces lots furent effectués de la plus grande importance possible, ce qui assure déjà, par la quantité des organes employés, des préparations plus approchantes.

L'extrait B est dilué à des taux divers. On cherche à savoir quelle est la dilution qui contient par 1/4 de centimètre cube l'unité-rat. Soit $1/t'$, cette solution. Pour l'extrait A elle était $1/t$. Il est alors facile de faire de l'extrait B un extrait ayant un titre identique à l'extrait A. Cette opération étant effectuée, avant de lancer l'extrait B dans le commerce, il est essayé sur un biermérien. On a ainsi une preuve de plus que l'extrait B contient bien le principe antipernicieux.

Nous souhaitons vivement que le principe antipernicieux soit identifié. La crise réticulocytaire du rat blanc semble bien la méthode expérimentale la plus susceptible d'y arriver. Ce jour-là, l'importante question de l'étalonnage des produits antianémiques ne se posera plus.

Mais d'ici là, la réponse réticulocytaire du rat blanc nous a paru capable :

a) d'assurer des lots de fabrication identiques entre eux. Les hématologistes savent bien que malheureusement les différents produits français ou étrangers sont loin de présenter cette qualité;

b) d'exprimer en unité biologique la teneur de ces préparations en principe actif et d'éviter ainsi de les comparer d'après la quantité d'organes dont elles sont extraites, ce qui ne donne aucune garantie d'efficacité.

CONCLUSIONS

L'étude expérimentale d'un extrait hépato-pyloro-gastrique montre qu'il offre tous les avantages et de la méthode de Whipple et de la méthode de Castle. Elle a même prouvé que cette préparation leur était supérieure. En effet, il ne s'agit pas d'une augmentation d'activité par actions additionnelles d'extrait hépatique et gastrique. Cette préparation est une combinaison biochimique des deux méthodes. Sa réalisation industrielle est réglée de telle sorte que l'on obtient le principe antianémique de Whipple stocké dans le foie, et celui qui naît, par inter-réaction, du facteur intrinsèque de Castle, sur le facteur extrinsèque convenablement choisi.

***

De façon à contrôler cette préparation délicate, à comparer entre eux les différents extraits obtenus, nous avons essayé la plupart des méthodes proposées. Ayant d'abord éliminé les moyens de recherches basés sur les anémies expérimentales, nous avons retenu les méthodes faisant appel à des animaux sains. La méthode de Walbach, quoique très intéressante et d'une portée très générale, est trop subjective. L'étude de la réaction réticulocytaire du rat blanc nous a donné entière satisfaction. En précisant les conditions expérimentales, nous pensons que cette réaction à laquelle on n'accordait qu'une valeur qualitative, peut permettre l'étalonnage des produits antianémiques.

***

Il serait à souhaiter que l'industrie pharmaceutique ne s'obstine pas à livrer des préparations antianémiques d'après la quantité d'organes dont elles sont extraites, ce qui ne donne aucune garantie d'efficacité.

The U. S. Pharmacopeia Antinemia Preparations Advisory Board a choisi une unité qui est la plus petite quantité produisant chez un biermérien une réponse hématopoïétique satisfaisante. Il est inutile de souligner la difficulté d'un tel étalonnage. Nous pensons qu'il est possible de définir une unité en se servant de la réaction réticulocytaire du rat blanc.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et, s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins, je les instruirais et les soignerais sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes; si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Vu, *Le Doyen*,
PIERRE MAURIAC.

Vu, bon a imprimer :
Le Président,
J. GUYOT.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 15 janvier 1941.
Le Recteur de l'Académie,
G. BOUSSAGOL.

BIBLIOGRAPHIE

Aagren (G.) et Caspersson (T.). — *Brit. Journ. exper. Path.*, 1936, 17, 87, in *Physiol. abst.*, 1937, 22, 482.

Achard (C.) et Hamburger (M.). — *Presse médicale*, 1930, 1273-1274.

Achard. — Leçons cliniques sur les maladies du sang, 1933.

Aievoli. — *Riforma Medica*, 7 mars 1935.

Aitoff (W.) et Loewy (G.). — Traitement des anémies graves, par la méthode de Whipple.

Alcock (R. S.). — *Biochem. Journ.*, 1933, 27, 754-758.

Aleksandrowicz (J.) et Gabryelski (W.). — *Fol. Hœmatol.*, 1937, 57, 337-352.

Alexeïeff (G.). — *Le sang*, n° 9, 1937, p. 972.

Allen (E. V.) et Giffin (H. Z.). — *Ann. Inter. Med.*, 1928, 1, 677.

Allerton. — *Lancet*, 2, 1930, 795.

Allodi. — *Minerva Medica*, 1930, n° 30.

Alsted. — Thèse Copenhaven, 1935.

Alt (H. L.). — *The Veterinary Ricord*, 1936, 16, 87.

Anardi. — *Annala Italiana de Chirurgica*, 1935.

Anderson. — *Lancet*, 1931, 5645.

Apperly et Cary. — *Am. J. Digestive Diseases and Nutrition*, 1936, 466.

Aron et Bauer. — Soc. de biol., 1933, 113, 1065.

Arthus (A.), Lourau (M.) et de Sacy (G. S.). — *C. R. Soc. de biol.*, 1934, 117, 861; 1935, 120, 583; 1938, 128, 512; 1939, 130, 642, *Le sang*, 1935, 9, 226; *Presse médicale*, 1937, 1102.

Aubertin et Voillemin. — Soc. méd. des Hôp. de Paris, 9 mai 1930.

Aubertin. — Traitement des anémies graves par le foie. Baillière, 1938.

Aubertin. — Traitement des anémies graves par les extraits imputables gastriques, hépatiques et gastro-hépatiques. *Europe méd.*, 1939, 1.

— Les régulations hormonales. Baillière, 1937, 735.

Aubertin et Hector (Mme). — Soc. méd. des Hôp. de Paris, 1938, 1617.

Audeoud. — *Arch. de méd. des Enf.*, mai 1935.

Azerad. — *Ann. de thérapie biol.*, 1935.

Backman, Grahs, Hultgreen et Price. — *C. R. Soc. de biol.*, 1926, 94, 933 et 941.

Barasninte. — *Clinica*, p. 140, juill. 1936.

Barath. — *Klin. Woch.*, 1935, 1077.

Barker et Miller. — *Am. Journ. of Med. Sc.*, 1938, 195, 287.

Barker. — *Am. Journ. of Med. Sc.*, 1937, 198, 293.

Barlow et Whitehead. — *Am. Journ. of Physiol.*, 1929, 89, 549.

Barnet. — *Am. Journ. of Med. Sc.*, 1931, 170; 1932, 24.

Barrach et Draper. — *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 1927, 24, 411.

Baserger. — *Hœmotologica*, vol. XVII, fasc. VII.

Beard. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1931, 94, 71.

Beard et Bogges. — *Am. Journ. of Physiol.*, 1935, 113, 642.

Becker. — *Acta Medica Scandinava*, 1931, 75, 227.

Beebe et Wintrobe. — *Arch. of Int. Med.*, 1932.

Bence. — *Wiener Med. Woch.*, 1933, 38, 1055.

— *Orvosi Hetilap*, 1934, 78, 1.

— *Zschrift f. Klin. Med.*, 1933, 126, 143-151; 1936, 130, 275-309.

Benda, Thoyer-Rozat et Urquia. — *Le Sang*, 1937, 11; 1938, 12.

Benhamou. — *Presse médicale*, 6 juin 1934.

— *Ann. de méd.*, 1936, p. 286.

— *Sud méd. et chir.*, janv. 1936.

Benhamou et Marill. — *Bull. et mém. Soc. méd. des Hôp. de Paris*, 1936, 509.

Bernard. — *Journ. des Sc. méd. de Lille*, oct. 1928.

Billig et Young. — *Brit. Med. Journ.*, 1932, t. I, 273.

Birkeland. — *Med. Balt.*, XL, 1, 1932.

Binet et Strumza. — *Journ. Physiol. path. gén.*, 1937, 35, 30-49.

Blum et Carlier. — *Presse médicale*, 30 nov. 1927.

Bomskov. — *Z. f. ges., exp. Med.*, 1933, 89.

Bordoli. — *Arc. Italiano delle mal. dell'app. dig.*, 174, 1936.

Bouchut et Froment. — *Bull. Soc. méd. des Hôp. de Paris*, juin 1933.

Boulin, Moutier et Lehman. — *Arch. des mal. de l'app. dig.*, 1936, 20, 1001.

Boyd. — *Ann. Journ. of Med. Sc.*, 5 mai 1934.

Braun. — *Folia Hematologica*, déc. 1934.

Brinkmann et Györgyi. — *Verlasgen P. afdelling Natuurkunde*, 1922, 32, 483.

— *Ber. Physiol.*, 1923, 21, 475.

Bronfenbranner. — *J. gen. of Physiol.*, 1932, p. 1926.

Brower et Simpson. — *Am. Journ. of Medical Sc.*, 1931, 319.

Brunelli. — *Minerva Med.*, 1934, 25, 430.

— *Münch Med. Woch.*, 1934, 81, 1289.

Bunting. — *Journ. of exper. Med.*, 1906, 8, 625, et 1909, 11, 541.

Burgess et Morgan. — *Proc. of Soc. Exp. Biol. and Med.*, 28, 371, 1931.

Buts et Watkins. — *Ann. of Intern. Med.*, 1936, 10, 222.

Cain, Cattan et Bensaude. — *Bull. et mém. Soc. méd. des Hôp.*, 1935, 1967.

Calvo. — *Siglo Med.*, 1931, 88, 377.

Carnot. — Les maladies digestives familiales. *Clin. méd. de l'Hôtel-Dieu*, XII, 2e série, Baillière, 1935.

Carnot et Lelièvre. — Soc. de biol., 1909.

Carnot et Deflandre (Mlle). — *C. R. Acad. des Sciences*, 1905.

Carnot et Caroli. — *Arch. des mal. de l'app. dig.*, 1934.

Carnot, Caroli et Coppo. — *Paris médical*, 312, 1935.

Caroli. — Les régulations hormonales. Baillière, Paris, 1937, 727.

Castellani et Chalmers. — Manual of Tropical medecine. Baillière, Tindall et Cox, Londres, 1910, 953.

Castellani (A.). — *Journ. Trop. Med.*, 1930, 33, 126.

Castellino (P.). — *Fol. med. (Napoli)*, 1930, 16, 9-28.

Castle. — *Journ. of Clinical Investigation*, 1928, 6, 2; *Am. Journ. of med. Sc.*, 1929, 178, 748.

Castle et Locke. — *Journ. of Clinical Investigation*, 6, 2, 1928.
— *Am. Journ. of Med. Sc.*, 1929, 178, 748 et 764.
Castle, Locke et Towsend. — *J. A. M. A.*, 1929, 764; 16 juill. 1930, 365.
Castle, Locke, Towsend et Heath. — *Lancet*, 1930, 1062.
Castle, Townsend et Heath. — *Am. Journ. of Med. Sc.*, 1930, 305.
Castle, Heath et Strauss. — *Am. Journ. of Med. Sc.*, 1931, 2, 741.
Castle et Taylor. — *Journ. Am. Med. Assoc.*, 1931, 1198.
Castle et Rhoads. — *Lancet*, 1932, 1, 829 et 1198.
Castle, Rhoads, Lawson et Payne. — *Arch. Int. Méd.*, 56, 628, 1935.
Castle. — *Sciences*, 23 août 1935, 159.
Caulaert. — *Presse médicale*, nov. 1927.
Chevalier. — *Le Sang*, 1932, 359.
— *Journ. méd. français*, 1937, 397.
— *Bull. Soc. thérap.*, 1938, 104.
— *Presse médicale*, févr. 1936, mai 1936.
Chevalier, Gutmann, Salmon, Fuhre. — *Le Sang*, 1933, 7, 756.
Chevalier, Moutier, Sevaux et Stewart. — *Le Sang*, 1934, 1003.
Chevallier, Moutier et Sevaux. — *Arch. des mal. de l'app. dig.*, 1935, 203.
Cheymol. — Médicaments antianémiques et anémies expérimentales. Masson, 1940.
Chiatellino. — *Arch. Italiano Mal. dell' App. Dig.*, juill. 1934, 160.
Chick et Copping. — *Biochemical Journ.*, 1930, 932, 1744.
Christiffersen. — *Ugesk. f. Loeger*, 95, 14 déc. 1933.
Clark et Coene. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1936, 114.
— *Proc. Am. Soc. Biol. Chem.*, XIX.
Cohn (E. J.), Minot (G. R.), Fulton (J. F.), Uerichs (H. F.), Sargent (F. C.), Weare (J. H.) et Murphy (W. P.). — *Journ. of Biol. Chem.*, 1927, 74 (*Proc. Amer. Soc. biol. Chem.*, LXIX-LXXII).
Cohn (E. J.), Minot (G. R.), Alles (G.) et Salter (W.). — *Journ. of Biol. Chem.*, 1928, 77, 325-358.

Cohn (E. J.), Minot (G. R.) et Mac Meekin (T. L.). — *Am. Journ. Physiol.*, 1929, 90, 316-317; *Journ. of Biol. Chem.*, 1930, 87 (*Proc. Amer. Soc. biol. Chem.*, XLIX-LII).

Colin, Minot, Ulrichs, Sargent, Weare et Murphy. — *Journ. of Biol. Chem.*, juill. 1927.

Conner. — *J. A. M. A.*, 1930, 94, 606.

— *Proc. Staff Meet. Mayo Clinic.*, avril 1932, 7, 213.

— *Journ. of am. A.*, 1931, 96, 500.

Connery et Goldwater. — *Journ. Am. Med. Assoc.*, 1932, 98, 1060.

— *Ann. Int. Med.*, 1934, 7, 1117.

Cordier, Morenas et Croizat. — *Arch. des mal. de l'app. dig.*, 1936, 26, 363.

Cornell. — *Canada M. A. J.*, 1925, 15, 26.

Creskoff et Fitz-Hugh. — *Journ. Lab. a clin. Med.*, 1939, 24, 411.

Crossetti et Bayardi. — *Minerva Medica*, 1937, 273.

Dakin et West. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1935, 109, 489.

— *Proc. Soc. exp. biol. a. med.*, 1939, 40, 124.

Dakin, Ungley et West. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1936, 115, 771.

Dameshek. — *West Virginia M. J.*, 1934, 30, 193.

Dameshek et Castle. — *Journ. of Am. Med. Assoc.*, 1934, 103, 802.

Davidson. — *Lancet*, 1931, 2, 1393.

— *Brit. Med. Journ.*, 1933, 1, 182; 2, 481; 1931, 1, 804.

— *Le Sang*, 1929, 3, 277.

Decastello. — *Med. Klin.*, 22 mars 1935, p. 377; 1930, 26, 1444.

Dedichen. — *Act. Med. Scand.*, 1934, 242; 1936, 195.

Deicher. — *Deutsche Med. Wochen.*, 1934, LX, 1390.

Dejust et Vaurs. — *C. R. Soc. de biol.*, 1929, 102, 510.

Denechau et Gaignard. — *Le Sang*, 1934, 338.

Dennig. — *Munch. Med. Woch.*, 1929, 76, 615.

Diehl et Khumau. — *Deutsch. Arch. f. Klin.*, 1933, 149.

Dominici et Penati. — *Minerva Medica*, 1931.

Donati, Manginelli et Tramonti. — *Minerva Medica*, 1931.

Doulcine et Bondarenka. — *Le Sang*, 1934.

Doumer et Buttiaux. — *Vie médicale*, 1936, 575.

Drabkin et Miller. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1931, 93, 39.

Dreyfus. — *Paris médical*, juill. 1932; févr. 1933.

Ducuing, Miletesky et Soula. — *Le Sang*, 1936, 10, 409.

Duesberg. — *Deutsch. Med. Woch.*, 1930.

Duesberg et Koll. — *Arch. exper. Path.*, 1931, 162, 296.

Dulcin et Bondarenko. — *Le Sang*, 1934, 1048.

Dyke et Harvey. — *Lancet*, 1933, 2, 59.

Ederle et Krieg. — *Klin. Woch.*, 1931, 10, 25.

Editorial. — *Lancet*, 1935, 2, 1129.

Edmunds et Brueckner. — *Journ. Pharm.*, 1932, 258.

Edmunds, Brueckner et Fritzel. — *Journ. Am. Phys. Ass.*, 1933, 91.

Elders. — *Lancet*, 1925, 1, 75.

Elvehjem (C. A.) et ses collaborateurs. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1928, 77, 769-795; 1931, 93, 189-195 et 197-201; 1933, 103, 61-70; 1933, 111, 357-371 et 617-628; 1936, 116, 93-106; 1938, 124, 419-424, 126, 155-173. *J. Exper. Med.*, 1937, 66, 145.

Engberding. — *Monatsch. f. Kinderb.*, 1934, 59, 332.

Engel et Czerny. — *Progrès médical*, 1937, 1842.

Erdoes. — *Bull. de la Soc. chim. de France*, 1935, 507.

— *Physiology Abstract.*, 1936, 61.

— *Orvosi Het.*, 4 mai 1935.

— *Biochem. Z.*, 1935, 277, 337-348.

Erlsbacher et Kindermann. — *Z. exper. Med.*, 1931, 454.

Eros et Kunos. — *Wien. Klin. Woch.*, 1936, 46-48 et 270-272.

Etienne et Louyot. — *Rev. méd. de l'Est*, 1934

Etienne, Verain et Loujot. — *Presse médicale*, 1934.

Eveleth, Bing et Myers. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1933, 359.

Faber. — *Arch. des mal. de l'app. dig.*, 1926.

— U. F. Loeger, 1930, 92, 467.

— Gastrite et ses conséquences. Oxford University Press, 1935.

Faber et Gram. — *Arch. Int. Med.*, 1924, 34, 827.

Fairley. — *Tr. Sec. Med. Hyg.*, 1934, 27, 545.

Fairley et Kilner. — *Lancet*, 1931.

Fasiani et Chiatellino. — *Presse médicale*, 1934.

Faust et Schmincke. — *Arch. f. exp. Path. Suppl.*, 1908, 171.

Faust et Tallqvist. — *Arch. f. exper. Path.*, 1907, 370.

Feigin et Plouskier. — *Varszawskie Czasopismo Lek*, 12, 1935.

— *Wiener Klin. Woch.*, 1936, 723.

Felix et Fruhwein. — *Hoppe-Seylers. Z.*, 1933, 173.

Fenger, Frederic et Andrew. — *Journ. of Biol. Chim.*, 1927, 371.

Fenlon. — *J. Iowa. State Med. Soc.*, 1921, 50.

Fiessinger. — Anémies. G. Doin, Paris, 1930.

— *Le Sang*, 1934, 8, 1-27.

— *Biol. méd.*, 1934, 24, 305-330.

Fiessinger et Laur. — *C. R. Soc. de biol.*, 1929, 724-725.

— *Le Sang*, 1932, 316-322.

Filo. — *Le Sang*, 1936, 38-56 et 704-724.

Finsterer. — *Pratique méd. franç.*, 1936, 86.

Firket. — *C. R. Soc. de biol.*, 1921, 727-730.

Fitz, Robson et Drabkin. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1933, 617.

Fitz-Hugh et Creskoff. — *Am. Journ. of Med. Sc.*, 1936, 168.

Fleischhacker et Schlesinger. — *Med. Klin.*, 1934, 332.

Fleury. — Encyclop. Médico-chirurg. : « Sang, anémie », 13.007.

Fleys. — Thèse Paris, 1935.

Flood et West. — *Proc. of Soc. Exp. Biol. and Med.*, 34, 542, 1936.

Flosdorf et Mud. — *Journ. of Immunology*, 29, 389, 1935.

Fogelin. — *Hosp.*, 1934, 284-294.

Fontana. — *Arch. Sc. Med.*, 1929, 53, 65.

Fontès (G.) et Thivolle (L.). — *C. R. Soc. de biol.*, 1925, 93, 687; 1932, 109, 911-914; *Le Sang*, 1930, 4, 658-730; 1932 6, 691-695; 1933, 7, 209-255 et 341-353 et 455-478; 1934, 8, 523-565 et 741-767; 1936, 10, 144-177 et 1056-1087.

Fontès et Thivolle. — *C. R. Acad. des Sc.*, 1930, 1088 et 1395.

Fontès, Kunlin et Thivolle. — Nutrition, 1936, 331.

— *C. R. Soc. de biol.*, 1935, 1291.

— *Le Sang*, 1936, 433.

Fouts, Helmer et Zerfas. — *Journ. of Clinical Investigation*, nov. 1932.

Fouts. — *Annals of Intern. Med.*, 8, 790, 1935.

Fouts et Zerfas. — *J. A. M. A.*, 1933, 188

— *Journ. of Med. Sc.*, janv. 1934.

— *Brit. Med. Journ.*, 27 janv. 1934.

Franke. — *Klin. Woch.*, 1934, 13, 4.

Friedlander et Steinitz. — *Deutsch. Med. Woch.*, 1933, 135.

Gaensslen. — *Klin. Woch.*, 1930, 2099.

— *Verh. Deutsch. Ges. Inn. Med.* 1936, 375.

— *Europe méd.*, 1939, 22-23.

Gaithier. — *J. A. M. A.*, 22 août 1936.

Ganblen. — *Deutsch. Med. Woch.*, 1931, 1926.

Ganslein. — *Verhandlung der Deutsch. Ges. f. I. M.*, 85, 1931.

Gaüslen. — *Deutsch. Med. Woch.*, 1930, 2099.

Gauthenberg. — *Klin. Woch.*, 1931, 2197.

Gebhardt et Cario. — *Deutsch. Med. Woch.*, 1932, 726.

Gibson et Howard. — *Arch. int. Med.*, 1923, 1-16.

Glaunès (J.-P.). — Le signe de Velez. Thèse Bordeaux, 1937.

Gluzinski. — *Beetr. Klin., d. Tub.*, 1911, 331.

Godel. — *Wiener Klin. Woch.*, 1930, 812.

Goldberger. — *Bull. Soc. Hyg. Lab. U. S. H. S.*, 1920, 120.

— *Pub. Health. Rep. U. S. H. S.*, 1922, 1063; 1926, 297; 1928, 172 et 657.

Goldhamer — *Arch. of Inter. Med.*, 1934, 54.

— *Proc. Soc. Exp. and Biol.*, 1934, 32, 476.

— *Am. Journ. of Med. Sc.*, 1936, 191, 405.

Goldhamer, Isaacs et Sturgis. — *Am. Journ. of Med. Sc.*, 1934, 193, 188.

Gondard. — *Gaz. des hôp.*, 24 août 1935.

Goodall. — *Lancet*, 1932, 2, 919.

Gordon-Taylor, Vaughan, Hudson, Dodds, Warner, Wittiby. — *Brit. Journ. of Surg.*, 1929.

Gorse. — Thèse Paris, 1936.

Gottlebe. — *Arch. f. exper. Path. u. Pharmak.*, 1936, 180, 229-234 et 354-366; 1936, 181, 317-324; 1936, 182, 91-97; 1937, 185, 353-358.

Gottlebe et Skibbe. — *Arch. Exp. Path. Pharm.*, 181, 317, 1936.

Gouget. — *Presse Med.*, 1914, 568.

Gounelle et Chaudre. — *Sang*, 1932, 1068.

Gowan. — *Edinburg Med. Journ.*, 1930, 330.

Gowan et Sinclair. — *Edinburg Med. Journ.*, 1931, 38, 405.

— *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.*, 1931, 28, 676.

— *Arch. int. Med.*, 1932, 49, 26.

Graveron. — Thèse Paris, 1939.

Greenspoon. — *A. J. M. A.*, 1936, 266.

— *Am. Ass. of Clin. Pathol.*, 1934.

Griffith. — *Biochem. Journ.*, 1934, 671.

Grosetti. — *Haematologica*, II, 1931.

Guillaume. — *Arch. des mal. de l'app. dig.*, 1936, 241 et 1015.

— *Gaz. des Hôp.*, n^os^ 93, 95, 1936.

Guillaumet. — *C. R. Soc. de biol.*, 1932, 911-914.

Guntzeit. — *Munch. Med. Woch.*, 1930; 1932, 1830.

Guntzeit et Hermann. — *Munch. Med. Woch.*, 1931, 266.

György. — *Z. Kinderheilk.*

Haden. — *J. A. M. A.*, janv. 1932.

Hamada. — *Z. Physiol. Chem.*, 1936, 258.

Hammarsten. — *Z. Platt. f. Physiol. Chim.*, 1908, 18; 1911, 142.

Hanes, Hansen-Pruss et Edwards. — *J. A. M. A.*, 106, 2058.

Hartfall. — *Guy Hosp. Report*, oct. 1934, 387.

— *Brit. Med. Journ.*, 1936.

— *Lancet*, 1933.

Harven (de). — *Le Scalpel*, 1936, 31.

Hawksley et Meulengracht. — *Lancet*, 1936.

Heath. — *Arch. Int. Med.*, 1933, 459.

Heimann, Connery et Goldwater. — *Am. Journ. of Med. Sc.*, 1934, 343.

Heinle et Miller. — *Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.*, 1939, 681.

Helmer. — *J. A. M. A*, 1934, 184.

Helmer, Fouts et Zerfas. — *Proc. Soc. exper. Biol.*, 1933, 775.

Hennig et Brugsch. — *Deut. Med. Woch.*, 1931, 1, 757.

Hennig et Keilhack. — *Arch. f. Werdanungs Krht.*, 1936, 59, 129.

Hennig et Norpoth. — *Zoch. f. Klin. Med.*, 1933, 1, 6.

Hennig et Stieger. — *Klin. Woch.*, 1930, 2, 2145.

Herron (W. F.) et Mac Ellroy (W. S.). — *Journ. of Biol. Chem.*, 1933, 100.

Herron (W.-F.) et Mac Ellroy (W.-S.), — *Proc. Amer. Soc. Biol. Chem.*, LIII.

— *Journ. of Am. Med. Assoc.*, 1933, 100, 1084-1086.

Hittmair. — *Wiener Klin. Woch.*, 1935.

Hitzenberger. — *Med. Klin. Woch.*, 1934.

Hitzenberger et Tuchfeld. — *Wien. Med. Woch.*, 1932, 17.

Hitzenberger et Zdansky. — *Wien. Ges. f. Inn. Med.*, 1934, 47.

Hoppe-Seyler. — *Z. Physiol. Chem.*, 1885.

Hurst. — *Lancet*, 1923.

Hutchinson. — *Le Sang*, 1939, 908.

Illig. — *Munch. Med. Woch.*, 1932, 2081.

Isaac et Mockel. — *Z. f. Klin. Med.*, 1911, 231.

Isaacs et Sturgis. — *J. A. M. A.*, 1930, 95, 585.

Isaacs, Goldhamer et Bethell. — *Journ. of Am. Med. Assoc.*, 1933.

Itelson et Yocen. — *Le Sang*, 1936, 602.

Ivy, Morgan et Farrel. — *Surg. Gynécand. Obstetric*, 1931, 611.

Ivy, Richter Meyer et Greengard. — *A. J. Dig. Dis.*, 1934, 186.

Iwashita. — *Japan Journ. of Dermat.*, 1937, 35, 363.

Jacobson. — *Clin. Invest.*, 1934, 13, 715; 1935, 14, 665.

— *Sciences*, 1934, 80, 211.

— *New England of Med.*, 1935, 663.

— *Brit. Journ. of Exp. Path.*, août 1936, 308.

Jaffé. — *J. A. M. A.*, 11 juill. 1936.

Jastrowitz et Neidhardt. — *Z. f. exper. Med.*, 1931, 526.

Jolly. — *C. R. Soc. de biol.*, 1909, 66, 136.

— *Traité technique d'hématologie*, 1923.

Jones, Benedict et Hampton. — *J. A. M. A.*, nov. 1935.

Josefson. — *Act. Med. Scand.*, 1934, 81, 550.

— *Fortschritte der Mediz.*, 1934, 52, 522.

Kagan. — *Folia Hœmatol.*, 1913, 17, 211.

Kahn, Morton et Torrey. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1925, 23, 8; 1926, 24, 413.

Kamerling. — *Wien. Klin. Woch.*, 1935, 1146.

Kaminer et Rohnstein. — *Berl. Klin. Woch.*, 1900, 687.

Karrer, Frei et Ringier. — *Helv. Chim. Acta*, 1937, 622; 1938, 314.

Katchoura. — *Le Sang*, 1935, 9, 873.

Keil et Nelson. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1931, 93, 49.

Kellogg, Mettier et Purviance. — *Journ. of Clin. Invest.*, 1936.

Kerr et Berger. — *Am. Journ. of Cancer*, 1935, 25, 544.

Klaperzak. — *Warszawskie Czap. Lek*, 12 sept. 1935.

Klein (L.) et Wilkinson (J. F.). — *Biochem. J.*, 1933, 27, 600-610; 1934, 28, 1684-1692.

Klumpp (T. G.). — *Journ. of Am. Med. Assoc.*, 1936, 106, 1245-1248.

Koessler, Maurer et Loughlin. — *J. A. M. A.*, 1936.

Koutchalowsky. — *Presse médicale*, 1936, 249.

Krumbhaar. — *Journ. of Lab. and Clin. Med.*, 1922, 11.
— *Am. Journ. Med. Sc.*, 1928, 523.

Kuhnau. — *Deut. Med. Woch.*, 59, 10 nov. 1933.

Kuhnau et Diehl. — *Deut. Arch. f. Klin.*, 1933, p. 149.

Kyer, Brooks et Isaacs. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 34, 677, 1936.

Lambin. — *Bull. et M. S. M. H.*, 6 juin 1930, 662.

Lambin et Cornil. — *C. R. Soc. de biol.*, 1931.

Lambin et de Weerdt. — *Le Sang*, 1939, 13, 928.

Lamy et See. — *Bull. gén. de thérap.*, 1936, 187, 416.

Lande, Dervillée et Challier. — *C. R. Soc. de biol.*, 1932, 963; 1932, 172-174.

Landsberg et Thompson. — *Journ. of Am. Phys. Assoc.*, 1934, 694.

Lassen. — *Am. Journ. of Med. Sc.*, 1934, 188, 461.

Lauda et Flaum. — *Wien. Klin. Woch.*, 1928, 1737.

Ledoux. — Le régime de Whipple dans le traitement des anémies. Nouvelles thérapeutiques.

Lehman. — Thèse Paris, 1936.

Lemaire et Lambin. — Congrès national des Sciences, 1930, 1129.

Lenier. — *Wien. Klin. Woch.*, 559, 1935.

Lesage. — *Union méd. du Canada*, 64, 9, 1935.

Levent. — Le traitement des anémies par le foie. *Nouvelles thérapeutiques.*

Litarczek et Dinischiotu. — *C. R. Soc. de biol.*, 1933, 1011.

Litarczek, Dinischiotu et Nestorescu. — *C. R. Soc. de biol.*, 1932, 198.

Livieratos et Tselios. — *Deutsch. Med. Woch.*, 1938, 82.

Loeffler. — *Europe méd.*, 1939, 3, 37.

Loeper et Merklen. — *Progrès médical*, 1932.

Lohr. — *Zentralblatt. f. Innese Med.*, 1936, 25.

Lombard. — Thèse doct. méd., 1938, Nancy.

Lottrup et Borgbjaerj. — *Hop. stidente*, 1929, 272, 764.

Lourau, de Sacy et Arthus. — *C. R. Soc. de biol.*, 1938, 127, 1173.
— *Le Sang*, 1939, 13, 749.

Lupu, Braunfr et Sarchisian. — *C. R. Soc. de biol.*, 1934, 117, 275.

Mac, Mills et Farguharson. — *Canadian Med. Assoc.*, XXVIII, 123.

Mach. — *Arc. des mal. de l'app. dig.*, 1936, 26, 545.

Macht. — *Journ. of Am. Med. Assoc.*, 1927, 753.

Mallarmé. — Thèse doct. méd., 1937, Doin, Paris.

Maller. — *Wien. Med. Woch.*, 1932.

Mansfeld et Sos. — *Klin. Woch.*, 1938, 386.
— *Presse médicale*, 1938, 993.

Maranon (J. G.) et Collazo (J. M.). — *Rev. méd. chir. mal. foie*, 1934, 9, 167-186.

Maranon (J. G.), Collazo (J. M.), Torres (I.) et Roda. — *Ann. de Méd. Int.*, 1934, 843.

Marchal. — Nouveau traité de path. int., Doin.

Marcorelles. — Thèse Paris, 1910.

Mariano. — *Minerva Medica*, 1934, 25, 333.

Marmoston-Gottesman et Perla. — *Journ. of Exper. Med.*, 1930, 52, 121.

Marquezy, Tavennec et Mlle Huguet. — *Paris médical*, 14 nov. 1936

Marshall. — *Am. Journ. of Physiol.*, 1935, 114, 194.

Marteau. — *Europe méd.*, 1939, 40.

Mayer. — *Arch. Schiffs und Tropenhyg.*, 1921, 150.

Mayer, Borchardt et Kikuth. — *Klin. Woch.*, 1926, 559.

Merklen, Israel et Froelich. — *Presse médicale*, 1935, 1065.

Mettier, Kellog et Ringhart. — *New England Journ. of Med.*, nov. 1934.

Meulengracht (E.) et ses collaborateurs. — *Acta med. Scand.*, 1934, 82, 352-391; 1935, 85, 50-88.

— *Nord. Med. Tid.*, 1935, 1, 865.

— *Z. f. Klin. Med.*, 1936, 130, 496.

— *Ugesk. f. Laeger*, 1934, 95, 179 et 96, 190 et 921.

— *Am. Journ. Med. Sc.*, 1939, 197, 201-214.

Meyer, Richter et Legere. — *Arch. of Internat. Med.*, 1934, 281.

Micheli. — *Minerva Med.*, 1934, 25, 776.

Migley et James. — *Quat. Journ. of Med. Oxford*, oct. 1934.

Mikaelides. — *Wien. Klin. Woch.*, 7 oct. 1932.

Miller et Rhoads. — *Journ. of Exper. Med.*, 1933, 58, 585; 1933, 59, 333.

— *New England Journ. of Med.*, nov. 1934.

— *Journ. of Clin. Investigation*, 1935, 14, 153.

— *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 1934, 32, 419.

Minot et Castle. — *Ann. Int. Med.*, 1931, 159.

— *Lancet*, 1935, 2, 319.

Minot et Murphy. — *Journ. of Am. Med. Assoc.*, 1926, 470; 1927, 759.

— *Brit. Med. Journ.*, 1927, 674.

Minot, Cohn, Murphy et Lawson. — *Am. Journ. of Med. Sc.*, 1928, 599.

Mitchell et Miller. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1931, 421.

Mogensen. — *Hopitelsditente*, 1934.

Morawitz. — *Arch. f. Vendanungskrankreiten*, 1930, 305.

Moreau. — Thèse Paris, 1932.

Morhardt. — *Presse médicale*, 1933, 15.

Morley et Roberts. — *Brit. Journ. of Surg.*, 1928, 16, 239.

Morris, Schiff, Foulger et Sherman. — *Munch. Med. Woch.*, 1932, 2074.

— *A. S. of Med. Sc.*, 1932, 778.

— *S. A. M. A.*, 1933, 171, 1932, 1080.

— *Tr. A. Am. Phys.*, 1933, 298.

Morris, Schiff, Foulger et Rich. — *Brit. Med. Journ.*, 1932, 1050.

Morris, Schiff, Burger et Sherman. — *Am. Med. Assoc.*, mai 1932.

Morris, Schiff et Foulger. — *Journ. Med.*, 1932, 318.

— *Ann. Int. Mod.*, 1933, 1530.

Mouquin. — *Encyc. Méd. Chirurg.*, 1937 : « Sang, Anémie ».

Mouras. — Thèse Paris, 1937.

Mouzon. — *Presse médicale*, 1930, 847.

Mullenix, Dragstedt et Bradley. — *Am. Journ. of Physiol.*, 1933, 433.

Mullius et Flood. — *Journ. of Clin. Investigation*, 1935, 14, 793.

Murphy. — *Journ. Am. Med. Assoc.*, 1932, 1051.

— *Am. Journ. Med. Sc.*, 1933, 271 et 361; 1936, 597.

Murphy et Howard. — *Journ. of Am. Med. Assoc.*, 1939, 106.

Netter. — *C. R. Soc. de biol.*, 1934, 1091.

Nielsen. — *Ugeskriff f. Loeger*, 1937, 366.

Nissen. — *Klin. Woch.*, 1922, 1986.

Noegeli. — *Helvetia Medica Acta*, 1936, 581.

Norpoth. — *Munch. Med. Woch.*, 1933, 423.

Olmer. — *Marseille médical*, 25 nov. 1932.

Ormerod. — *Bristol Med. Chem. J.*, 1932, 61.

Orten. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1938.

Orten, Underhill et Lewis. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1932.

Orten, Underhill, Mugrage et Lewis. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1932, 10.

Ottenberg. — *J. A. M. A.*, avril 1933.

Overbeck. — *Arch. Inter. de Pharmaco-dynamie et thérapie*, 1936, 340.

Overbeck, Gaillard et de Jongh. — *Schweiz. Med. Woch.*, 1938, 711.

Pappenheim et Szecsi. — *Folia Hœmatalog.*, 1912, 25.

Paschkis. — *Wien. ges. f. inn. Med.*, 1934, 1758.

Paschkis et Taylor. — *Klin. Woch.*, 1934, 1538.

Patek. — *Arch. Int. Med.*, 1936, 73.

Patton, Allardyce et Mackeson. — *Canadian Med. Ass. Journ.*, 1932, 463.

Payiot. — *Journ. de méd. de Lyon*, 33, 1935.

Peabody et Neale. — *J. A. Phys. Ass.*, 1933, 1231.

Perrin. — Régulations hormonales. Baillière, Paris, 1937, 664

Peters. — *Presse médicale*, 1924, 105.

Pétri. — *Acta Path. et Microbiol. Scandinava*, 1935, 329.

Pétri, Boggild, Ohlsen, Soeborg et Busch. — *Hospitalstidente*, 1935, 573, 629 et 1153; 1936, 509.

Pétri, Ohlsen et Boggild. — *Act. Med. Scand.*, 1935, 14.

Piwowaroff. — *Arch. f. Exper. Path.*, 1925, 281.

Plandeit. — *Naderlandsch. Tydsch. woor gen.*, 31 août 1935.

Polland. — *Journ. of clin. Invest.*, 1933, 599.

Polonovski et Briskas. — *C. R. Soc. de biol.*, 1938, 379 et 493.
— *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1938, 1128.

Porter et Palmer. — *J. A. M. A.*, 1, 146, 1935.

Poumailloux. — *Encyclop. Med.-Chir.* : « Sang, Anémie ».

Powers et Murphy. — *Journ. of Am. Med. Assoc.*, 1931, 504.

Preez, Sweets et Zeitlinger. — *Klin. Woch.*, 1930.

Rambert. — *Paris médical*, 1936.

Ramentol. — *Rev. de Cir. de Barcelona*, 1936, 182.

Rauschenberger. — *Klin. Woch.*, 1935, 14, 1758.

Ravina. — *Presse médicale*, 1932, n° 68; 1936, 504.

Reed. — *Am. Journ. of Tropical Med.*, sept. 1936.

Reiman. — *Med. Klin.*, 1931, 27, 880; 1934, 13, 413.

Reiman et Weil. — *Zschr. f. Klin. Med.*, 1934. —

Reiman et Fritsch. — *Klin. Woch.*, 1934, n° 26, 951.

Reiman, Hemmrich et Steiner. — *Zschr. f. Klin. Med.*, 129, 659, 1936.

Reiman, Sinek et Fritsch. — *Z. Klin. Med.*, 1933, 41.

Reiman, Biederman et Zwillinger. — *Zschr. f. Klin. Med.*, 1935, 175.

Reiter. — *Deutsch. Med. Woch.*, 1931, 1660.

Renshaw. — *Brit. Med. Journ.*, 1930, 334.

Rentz. — *C. R. Soc. de biol.*, 1928, 816.

Rhoads et Castle. — *Am. Journ. of Pathol.*, 1933, 813.

Rhoads et Miller. — *Journ. of the Am. Med. Assoc.*, 1934, 387.
— *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1937, 654.

Richter, Ivy et Meyer. — *Proc. Soc. Exp. Biol. et Med.*, 1934, 550.

Richter, Ivy et Kim. — *Proc. Soc. Exp. Biol. et Med.*, 1932, 1093.

Rider. — *Journ. of Biol. Chem.*, 1933, 243.

Rieder. — *Z. Blatt f. Klin.*, mars 1934, 722.

Rieux. — *Hématologie clinique*, 1924.

Rochaix. — *Mouvement sanitaire*, 1935, 427.

Rodino et Garcia. — *Arch. de Med. et Cir.*, janv. 1934.

Rodriguez-Olleros et Rodriguez-Molina. — *Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med.*, 1938, 174.

Roger et Olmer. — *Sud Méd. et Chir.*, 1936, 918.

Rohner. — Soc. Pédiatrie, févr. 1932.

Rosenow. — *Klin. Woch.*, 1930, 652.

Rosenthal et Zohmann. — *Arch. of Path.*, 1931, 405.

Roussel et Mme Gruzewska. — *C. R. séances Soc. de biol.*, 1934, 35.

Rowlands et Levy-Simpson. — *Lancet*, déc. 1932.

Ruysniak et Engel. — *Deutsch. Med. Woch.*, 1932, 1592.

Sabrazès. — Traité du sang. Baillière, Paris, 1913, 147.

— *Journ. Physiol. et Path. gén.*, 1900, 941.

Salus et Reichmann. — *Klin. Woch.*, 1934, 986.

— *Z. Schr. f. Klin. Med.*, 1934.

Schabbel et Bareuther. — *Deutsch. Med. Woch.*, 1938, 80.

Scharp. — *Journ. of Am. Med. Assoc.*, 1929, 749.

Scharp, Mc Kean et von der Heide. — *Am. Int. Med.*, 1931, 1282.

Scharwz. — *Chimica et Industria*, 1938, 356.

Schaw. — *Quart. f. of Pharm. and Pharmacol.*, 1937, 380.

Schilling. — *Klin. Woch.*, 1928, 785.

Schlesinger. — *Klin. Woch.*, 1933, 298.

Schmidt. — *Arch. f. Hygiène*, 1907.

Schroeder. — *Fol. Hœmatol.*, 1932.

Schultzer. — *Acta Med. Scandinavica*, juin 1934.

Seggel (K. A.). — *Fol. Hœmatol. (Lpz.)*, 1934, 52, 241-249; 1934, 52, 250-259; 1936, 54, 374.

— *Klin. Woch.*, 1936, 15, 574-576; 1937, 16, 383-385.

Seyderheim, Lehmann et Wichels. — *Krkh. forsch.*, 1927, 263.

Sharp. — *J. A. M. A.*, 1929, 93, 749.

Sharp, Mc Kean et Heide. — *Am. Int. Med.*, 1931, 1282.

Shaw. — *Guy Hosp. Rep.*, 1926, 294.

Shumacker et Wintrobe. — *Bull. of Johns Hopkins Hosp.*, mai 1936.

Silberstein et Hauswith. — *Med. Klin.*, 1928, 1795.

— *Schwz. Med. W.*, 1932, 12.

Singer. — *W. Klin. Woch.*, août 1932; 1935, n° 6.
— Ergebniose der in Medizin, 1934, 421.
Singer et Wechsler. — *Klin. Woch.*, mai 1936.
Smith et Stohlman. — *Pullic Healter Report*, 1934; Washington.
Snapper. — *W. Med. Woch.*, févr. 1933.
Snapper et du Preez. — *Soc. méd. des Hôp. de Paris*, 1930, 662.
— *Nederl. tyschr. voorgen*, 1931.
Soula, Tapie et Fau. — *C. R. Soc. de biol.*, 1929, 1022.
Starti. — *Hœmatologica*, 1931, 3.
Stefannen. — *Acta Med. Scandinavica*, 1934, 338.
Stohlmann et Smith. — *Ber. Physiol.*, 1935, 360.
Stoichita et Waltes. — *Chynd. Medical*, 1934.
Strandell. — *Acta Medica Scandinava supp.*, déc. 1935.
Straus et Castle. — *Lancet*, juill. 1932.
— *Am. Journ. of Med. soc.*, avril 1933.
— *New England Journ. Med.*, 1932, 55.
Sturgis et Isaac. — *J. A. M. A.*, 1929, 747; 1930, 585.
Tancredi. — *Hœmatologica*, fasc. IX.
Tavennec. — Thèse Paris, 1936.
Taylor, Manwell, Robbins et Whipple. — *Am. Journ. of Physiol.*, 1930, 408.
Tempka. — *Folia Hœmatologica*, 1937, 30.
Thayssen. — *Arch. des mal. de l'app. dig.*, 1934, 123.
Théodorides. — Thèse doct., Paris, 1931.
Thiele. — *Klin. Woch.*, juin 1936.
Tochowitz. — *Folia Hematologica*, déc. 1934.
— *Poloska Gaz. Lek.*, 1934, 838.
Tonnis, Horster, Reimers et Rüdel. — *Z. exper. Med.*, 1932, 728, 740, 752, 765, 775, 782.
Torrey et Kahn. — *Am. Journ. of Path.*, 1929, 117.
Touraine. — *Le Sang et Org. hémopoïétique*, 1934.
Trager. — *Am. Journ. Hygiène*, 1935, 475.
Tschesche et Wolf. — *Z. Physiol. Chem.*, 1936, 244; 1937, 248, 2.
Tudoranu, Nitzulecu et Herescu. — *C. R. Soc. de biol.*, 1936, 625.
Ucko. — *Z. f. Klin. Med.*, 1931, 1171; 1931, 118, 221.
Ungley. — *Lancet*, 1931, 2; 1936, 1232.
Ungley, Davidson et Wayne. — *Lancet*, 1936, 349.

Van de Calseyde. — *Le Sang*, 1938, 483 et 712.

Varadi. — *Le Sang*, 1934, 39.

Varay. — *Presse méd.*, 1936, 2118.

Vaughan. — *J. A. M. A.*, 100, 781.

Vaughan et Hunter. — *Lancet*, 1932, 1, 829.

Vaughan, Muller et Minot. — *Lancet*, 1932, 1, 829.

Vaughan et Zetzell. — *Brit. J. Exp. Patti.*, 1930, 456.

Vedder. — Thèse d'Amsterdam, 1936.

Vlados, Bagdasarov, Dulcin et Bondarenko. — *Act. Med. Scand.*, 1936, 285.

Wakerlin. — *Proc. Soc. Exp. Biol. et Med.*, 1935, 1607.

Wakerlin et Bruner. — *Arch. Int. Med.*, mai 1936.

Wakerlin et Kinsmann. — *Journ. of Pharm. and Exp. Therapy*, 1936, 38, 1 à 58.

Walden et Cloves. — *Proc. Soc. Exp. Biol. et Med.*, 1932, 873.

Walters. — *J. A. M. A.*, 1933, 100.

Warberg et Jorgensen. — *A. Medica Scand.*, 1928, 1929.

Watermann, Kohn et Hirschfeld. — *Nederlandsche Tijdschrift voor zenseskunde*, 1937, 2622.

Weil et Bernard. — *Presse médicale*, 1935, 97.

Weinberg (M.) et ses collaborateurs. — *C. R. Soc. de biol.*, 1928, 99, 567-569; 1939, 103, 1091-1094.

— *Le Sang*, 1933, 7, 139-152.

Weissenbach. — Thèse citée par Marchal.

Weller. — *Le Sang*, 1938, 220.

West. — Gladulas Physiol. (Chicago), 1935. *J. A. M. A.*, 1935, 432.

West (R.) et Howe (M.). — *Journ. Biol. Chem.*, 1930, 88, 427-431 et 1931, 94, 611.

— *Journ. of Am. Med. Assoc.*, 1931, 97, 685-686.

Whipple (G. H.) et ses collaborateurs. — *Am. Journ. of Physiol.*, 1920, 53, 167 et 236; 1922, 61, 138-158; 1925, 72, 395-435; 1926, 76, 708; 1926, 78, 675; 1926-1927, 79, 260-288; 1927, 80, 391-410; 1927, 83, 60-83; 1928, 85, 403; 1928-1929, 87, 185; 1930, 92, 362-408 et 408-413; 1934, 108, 270-284; 1935, 112, 26-32; 1935, 113, 467-475; 1936, 115, 651-661; 1939, 126, 142-147.

— *Arch. int. Med.*, 1922, 29, 74.

Whipple (G.-H.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1927, 24, 860.

— *Am. Journ. of Med. Sc.*, 1930, 179, 628-643; 1936, 191, 11-23 et 24-42.

— *Journ. Exper. Med.*, 1929, 49, 215.

Wiedmann (A.). — *Klin. Woch.*, 1938, 17, 766-769.

Wilbur et Ochsner. — *Am. Int. Med.*, 1935, 1667.

Williams (H. H.), Erickson (B. N.), Bernstein (S.), Humel (E. C.) et Macy (L. G.). — *Journ. of Biol. Chem.*, 1937, 118, 569-618.

Wills (L.), Clutter Buck (P. W.) et Evans (B.). — *Lancet*, 1937, 232, 311-314.

— *Biochem. J.*, 1937, 31, 2136.

Wilkinson. — *Brit. Med. Journ.*, 1930, 1, 236; 1932, 2, 1163.

— *Quaterley J. Med.*, 1, 361, 1932.

— *Lancet*, 2, 629, 1933; 15 févr. 1936.

Wilkinson et Klein. — *Lancet*, 15 févr. 1932, 1, 1932; 1933, 225.

Wilkinson (J. F.). — *Brit. Med. Journ.*, 1930, 1, 236-239; 1931, 1, 85-91.

— *Lancet*, 1936, 230, 355-356.

Wilkinson (J. F.) et Klein (L.). — *Lancet*, 1933, 225, 629-633.

Williams et van der Weer. — *Proc. Soc. Exp. Biol. et Med.*, 29, 858, 1932.

Winge. — *U. f. L.*, 1930.

Wintrobe. — *Arch. of Int. Med.*, févr. 1936.

Wintrobe et Shumacker. — *Journ. of Clin. Inv.*, 1935, 837.

— *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 52, 387, 1933.

Witts. — *Lancet*, 4 janv. 1936.

Wolff. — *Klin. Woch.*, 1935, 1548.

Wotzka. — *Deutsch. Med. Woch.*, 1935, 1548.

Wright. — *Am. Journ. of Med. Sc.*, 1935, 189, 115.

Yoschitoschi. — *Journ. of Oriental Med.*, janv. 1934.

Young. — *Tr. Am. Gastr. Enter.*, AT 1933, 36, 237.

Zancan. — *Arch. per le Scienze Med.*, déc. 1935.

Zard. — *Arch. Ital. Mal. App. Digerenti*, 1-5, 1932.

21463. — Bordeaux, Imprimeries Delmas, 6, place Saint-Christoly. — 1941.